

DIE WIRKUNG VON SALZEN AUF
FIBRILLÄRES MUSKELEIWEISS
BEI THERMISCHER BEHANDLUNG

Franz Schrott

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551921_0078

Aus dem Lehrstuhl für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. h.c. L. Kotter

Die Wirkung von Salzen auf
fibrilläres Muskeleiweiß
bei thermischer Behandlung

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität
München

von
Franz Schrott
aus
Wolnzach
München 1974



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. E. Dahme
Referent:	Prof. Dr. Dr. h.c. L. Kotter
Korreferent:	Prof. Dr. D. Giesecke
Tag der Promotion:	26. Juli 1974

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	2
2.1. <u>Mikroskopischer und ultramikroskopischer Feinbau der Muskelfaser</u>	2
2.2. <u>Myofibrilläre Proteine</u>	8
2.2.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften	8
2.2.1.1. Kontraktile Proteine	8
2.2.1.1.1. Myosin	8
2.2.1.1.2. Actin	11
2.2.1.1.3. Actomyosin	13
2.2.1.2. Regulatorische Proteine	14
2.2.1.2.1. Tropomyosin und Troponin-Komplex	14
2.2.1.2.2. α - und β -Actinin	16
2.2.1.2.3. Andere myofibrilläre Proteine	17
2.2.2. Kolloidchemisches Verhalten	17
2.3. <u>Elektrolytwirkung auf das fibrilläre Eiweiß</u>	23
2.3.1. Direkte Salzwirkung	24
2.3.1.1. Neutralsalze	24
2.3.1.2. Salze schwacher Säuren	27
2.3.2. Indirekte Salzwirkung	32
2.3.2.1. Wasserbindungsvermögen	32
2.3.2.2. Quellung	33
2.3.2.3. Rheologie	35
2.3.2.4. Extraktionsfähigkeit und Löslichkeit	37
2.3.2.5. Emulgiereigenschaft	38
2.4. <u>Kolloidchemische Vorgänge und Veränderungen infolge thermischer Behandlung mit und ohne Elektrolytzusatz</u>	41
2.4.1. Allgemeines	41
2.4.2. Intra- und intermolekulare Strukturveränderungen	42
2.4.3. Veränderung der funktionellen Gruppen	44
2.4.4. Verminderung bzw. Verlust der Löslichkeit, Extraktionsfähigkeit und Viskositätsveränderung	47
2.4.5. Schrumpfung und Safthaltevermögen	49
2.4.6. Histologische Veränderungen	51
2.4.7. Wasserbindungsvermögen und Quellung	52
2.4.8. Emulsionsstabilität	54

	Seite
3. Eigene Untersuchungen	56
3.1. <u>SH-Gruppenbestimmung mit N-Äthylmaleinimid (NEM)</u>	56
3.1.1. Problemstellung	56
3.1.2. Versuchsanordnung	56
3.1.3. Versuchsergebnis	58
3.1.4. Diskussion	61
3.2. <u>Bestimmung des Löslichkeitsverlustes von Actomyosin bei verschiedenen Temperaturen</u>	61
3.2.1. Problemstellung	61
3.2.2. Versuchsanordnung	62
3.2.3. Versuchsergebnis	63
3.2.4. Diskussion	66
3.3. <u>Bestimmung der Emulsionskapazität, Emulsionsstabilität und Gerüstbildung von Actomyosinlösungen</u>	67
3.3.1. Problemstellung	67
3.3.2. Beschreibung der Emulsionsbereitung	68
3.3.3. Bestimmung der Emulsionskapazität	68
3.3.3.1. Versuchsanordnung	69
3.3.3.2. Versuchsergebnis	69
3.3.3.3. Diskussion	69
3.3.4. Bestimmung der Emulsionsstabilität mittels Phasentrennung	70
3.3.4.1. Versuchsanordnung	70
3.3.4.2. Versuchsergebnis	70
3.3.4.3. Diskussion	73
3.3.5. Bestimmung der Gerüstbildung in Emulsionen ("Emulsionsstabilität") und Actomyosinlösungen beim Erhitzen	73
3.3.5.1. Bestimmung der Emulsionsstabilität	73
3.3.5.1.1. Versuchsanordnung	73
3.3.5.1.2. Versuchsergebnis	74
3.3.5.2. Bestimmung der Gerüstbildung von Actomyosinlösungen	75
3.3.5.2.1. Versuchsanordnung	75
3.3.5.2.2. Versuchsergebnis	75
3.3.5.3. Diskussion	76

3.4.	<u>Einfluß von Salzen auf Länge, Durchmesser sowie ultramikroskopische Struktur von Muskelfasern bei der thermischen Behandlung</u>	78
3.4.1.	Problemstellung	78
3.4.2.	Bestimmung der Faserverkürzung	78
3.4.2.1.	Versuchsanordnung	78
3.4.2.2.	Versuchsergebnis	79
3.4.3.	Bestimmung des Faserdurchmessers	79
3.4.3.1.	Versuchsanordnung	79
3.4.3.2.	Versuchsergebnis	80
3.4.4.	Ultramikroskopische Untersuchungen	81
3.4.4.1.	Versuchsanordnung	81
3.4.4.2.	Versuchsergebnis	81
3.4.5.	Diskussion	86
4.	Zusammenfassung, Summary	87
5.	Literaturverzeichnis	89

1. Einleitung

Der Ablauf der Hitzekoagulation und die dabei eintretenden Veränderungen des kolloidalen Verhaltens der myofibrillären Proteine sind für die Herstellung von erhitzten Fleischerzeugnissen und die Vorbehandlung von Verarbeitungsfleisch von großer Bedeutung. Durch Elektrolyte werden diese Vorgänge entscheidend beeinflusst. So wird das Wasserbindungs- und Safthaltevermögen beim Erhitzen in Anwesenheit von Salzen weniger beeinträchtigt und das Gerüstbildungsvermögen begünstigt. Ziel der vorliegenden Arbeit war, Ursache dieser Elektrolytwirkung beim Erhitzungsvorgang weiter zu analysieren.

Die Untersuchungen sollten sich auf die physikalisch-chemischen Veränderungen des Polypeptidmoleküles (Auffaltung, Löslichkeit) und die Gerüstbildung unter standardisierten Bedingungen konzentrieren. Ferner sollte der unterschiedliche Effekt verschiedener Salze bei der thermischen Behandlung auf die histologische Struktur der Muskelfasern dargestellt werden.

1. Einleitung

Der Ablauf der Hitzekoagulation und die dabei eintretenden Veränderungen des kolloidalen Verhaltens der myofibrillären Proteine sind für die Herstellung von erhitzten Fleischerzeugnissen und die Vorbehandlung von Verarbeitungsfleisch von großer Bedeutung. Durch Elektrolyte werden diese Vorgänge entscheidend beeinflusst. So wird das Wasserbindungs- und Safthaltevermögen beim Erhitzen in Anwesenheit von Salzen weniger beeinträchtigt und das Gerüstbildungsvermögen begünstigt. Ziel der vorliegenden Arbeit war, Ursache dieser Elektrolytwirkung beim Erhitzungsvorgang weiter zu analysieren.

Die Untersuchungen sollten sich auf die physikalisch-chemischen Veränderungen des Polypeptidmoleküles (Auffaltung, Löslichkeit) und die Gerüstbildung unter standardisierten Bedingungen konzentrieren. Ferner sollte der unterschiedliche Effekt verschiedener Salze bei der thermischen Behandlung auf die histologische Struktur der Muskelfasern dargestellt werden.

2. Literatur

2.1. Mikroskopischer und ultramikroskopischer Feinbau der Muskelfaser

Die Skelettmuskelfaser ist eine stark differenzierte Körperzelle, deren spezifische Konstruktion und Einrichtung praktisch ausschließlich auf die Muskelkontraktion abzielt. Sie weist eine langgestreckte, an beiden Enden abgerundete oder etwas zugespitzte Form auf. Ihr Querschnitt ist meist rundlich, oft aber auch polygonal (146). Der Durchmesser kann von 10 bis 150 μ schwanken (146, 152). Es sind aber auch höhere Durchschnittswerte bekannt (133). Bei gesunden Tieren variiert die durchschnittliche Faserdicke von Muskel zu Muskel; aber auch Art, Rasse und Geschlecht haben einen Einfluß (97, 133). Nach JOUBERT (133) beträgt der Faserdurchmesser z.B. beim Schaf 50,4, beim Rind 73,3 und beim Schwein 90,9 μ . Die Länge der Faser ist noch größeren Schwankungen unterworfen (10 μ bis 15 cm). Im allgemeinen ist sie aber 1 bis 5 cm lang (146, 244).

Jede Faser stellt ein Plasmodium dar, das aus der Hülle, dem Sarkoplasma, mit den eingelagerten kontraktile Elementen und den randständigen, meist platt gedrückten Kernen (bis zu einigen hundert) besteht (146). Die Hülle setzt sich aus dem ultramikroskopisch dünnen, der Faser unmittelbar aufliegenden Plasmalemm und dem darüber liegenden, strukturlosen und durchsichtigen Sarkolemm zusammen (1 μ). Das Sarkoplasma enthält die üblichen Bestandteile einer Zelle, nämlich Mitochondrien, Fetttröpfchen, Glykogeneinlagerungen, Ribosomen, Lysosomen und das die Myofibrillen umgebende sarkoplasmatische Retikulum (146, 244).

Die Myofibrillen sind als kontraktile Elemente der Hauptbestandteil der Muskelzelle. Sie sind parallel zur Faserachse angeordnet und ein bis zwei μ dick. Nach BENDALL (17) sind etwa 1000 Fibrillen pro Zelle zu finden. Eine Faser beinhaltet mehrere hundert Fibrillen, die ihrerseits wieder in Myofilamente von 100 bis 200 Å Dicke aufgegliedert werden.

Die Querstreifung einer längs geschnittenen Faser kommt dadurch zustande, daß sich bei allen Fibrillen jeder Faser die gleich brechenden Segmente in gleicher Höhe befinden. Die dunklen Querbanden, genannt A-Banden, sind anisotrop, zeigen also Doppelbrechung, während die hellen Querbanden einfach lichtbrechend, also isotrop sind und deshalb auch als I-Banden bezeichnet werden. Bei Pferd und Schwein ist die Querstreifung infolge der dicken Querbänder deutlicher als bei Wiederkäuern, bei denen die Längsstreifung infolge des Sarkoplasmareichtums der Muskelfaser besonders gut in Erscheinung tritt (146). Das Zentrum der A-Bande hat wiederum einen niedrigeren Brechungsindex als die Ränder und wird - nach HENSEN - H-Zone genannt. Eine funktionelle Einheit wird Sarkomer bezeichnet und durch zwei Z-Linien, an welche die Fibrillen fixiert sind, begrenzt. Die Sarkomerenlänge beträgt im entspannten Kaninchenmuskel z.B. im Durchschnitt 2,2 μ (244).

HUXLEY und NIEDERGERKE (128) untersuchten entspannten und kontrahierten Muskel mit einem Interferenzmikroskop und stellten fest, daß sich bei der Kontraktion nur die I-Bande verkürzt, bzw. ganz zum Verschwinden kommt. Ferner verändert sich die Länge der H-Zone in dem Maße, wie sich die Sarkomerenlänge verändert. Nach einer vergleichenden Studie mit entspanntem Muskel bei Anwesenheit von ATP und mit "Rigormuskulatur" nach ATP-Entfernung mußte nach H. E. HUXLEY (122) das kontraktile Material in der quergestreiften Muskulatur zwei Arten von Filamenten enthalten. Untersuchungen der Fibrillenquerschnitte in verschiedenen Abschnitten brachten Klarheit über die Anordnung der Filamente zueinander (16, 116, 121, 180). Im Bereich der H-Zone werden nur dicke Filamente mit einem Durchmesser von 100 Å angetroffen. In der Randzone der A-Bande treten auch dünne Filamente mit einer Dicke von 50 Å auf, und in der I-Bande sind jeweils nur die dünnen Filamente vorzufinden. Aufgrund dieser Untersuchungen konnte ferner gezeigt werden, daß im Bereich der Randzonen der A-Bande jedes dicke Filament in hexagonaler Anordnung von 6 dünnen und jedes dünne Filament

von 3 dicken umgeben ist.

Durch eine Reihe von verschiedenartigen Extraktionsversuchen konnte aus dem dicken Filament eine bestimmte Eiweißart, genannt "Myosin", und aus dem dünnen Filament die Proteine, die man als "Tropomyosin" und "Actin" bezeichnete, gewonnen werden (33, 100, 101, 105). HUXLEY (123, 124) erarbeitete aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen mit Myofibrillen und mit sekundär bei niedrigen Ionenstärken entstandenen Myosin-Aggregaten ein Modell über den Aufbau der dicken Filamente. Er zeigte, daß diese Filamente Polymere des Myosins sind. Dieses Myosin besteht seinerseits wiederum aus einem langgestreckten Abschnitt, dem Light-Meromyosin (LMM), und zwei am Ende aufsitzenden sphärischen Gebilden, dem Heavy-Meromyosin (HMM). Das Myosin-Filament kommt nun dadurch zustande, daß sich die langgestreckten LMM-Abschnitte in verschiedener Höhe aufgrund elektrostatischer Anziehung aneinanderlegen und so den "Stamm" des Myosin-Filamentes bilden. Die HMM-Teile aber ragen nun nach HUXLEY aus dem Filament gleichsam wie Köpfe heraus und sollen mit den umliegenden Actin-Filamenten Beziehung aufnehmen.

HANSON und LOWY (103) stellten fest, daß ein polymerisiertes F-Actin von einem Actinfilament nicht unterschieden werden kann. Sie vermuteten aber, daß diese beiden Gebilde nicht gleichzusetzen sind, da das Actinfilament noch zusätzliche Proteine enthalten dürfte. Die Länge eines Polymerisationsproduktes kann variieren (polydispers). Im Schnitt ist sie jedoch $1,5\mu$ lang (138). BROWN und HUXLEY (125, 126) konnten dann den Aufbau eines Actinfilamentes bereits näher analysieren. Die Grundeinheit eines Filamentes ist das G-Actin (monomeres Actin), ein globuläres Protein mit einem Durchmesser von $55 \text{ \AA}$. Diese Bausteine formen dann die Doppelspirale. Der Bereich einer Windung (360°) beträgt $700 \text{ \AA}$ und beinhaltet 2×13 Proteineinheiten (103); ein 1μ langes Actinfilament hätte somit etwa 370 G-Actin-Einheiten. HANSON (99) und MOORE und Mitarbeiter (179) zeigten jedoch, daß durch Änderung der Färbetechnik bei der Elektro-

nenmikroskopie die Länge einer Windungseinheit stark verändert werden kann. Das G-Actin des einen Stranges ist jeweils $27,5 \text{ \AA}$, also um den halben Durchmesser des G-Actins versetzt. Neue Erkenntnisse bringen weitere fibrilläre Muskelproteine mit der Actinfilamente in Zusammenhang, nämlich Tropomyosin und den Troponin-Komplex. So liegen nach BENDALL (17) die langen dünnen Moleküle des Tropomyosins in den Vertiefungen der Actin-Spirale. Mit diesem Tropomyosin ist innerhalb bestimmter Intervalle der Troponin-Komplex verbunden, der aus drei globulären Proteinen mit niedrigem Molekulargewicht bestehen soll (65, 220). Im Ruhezustand - bei einem Übergewicht an Mg-ATP - soll nun der Troponin-Komplex die wichtige Eigenschaft besitzen, die mit Mg-ATP gesättigten Myosinköpfe abzustoßen (17).

Die Z-Linie (auch Z-Scheibe oder Z-Bande) ist ein charakteristisches Merkmal der quergestreiften Muskulatur. HASSELBACH (105) stellte bei der selektiven Extraktion von Myosin fest, daß die Actinfilamente, die er noch als von Z- zu Z-Linie durchlaufende Stränge beschrieb, im Abstand von $20.000 \text{ \AA}$ durch die Z-Scheiben zusammengehalten werden. Bei intensiverer Extraktion, aber unter Bedingungen, unter denen noch immer kein F-Actin gewonnen werden konnte, verschwand die Z-Scheibe. Lange wurde angenommen, daß Tropomyosin ein wichtiger Bestandteil der Z-Linie ist (44). Auch HUXLEY (124) vermutete, daß die Actinfilamente durch ein Maschengitter von Tropomyosin mit den Z-Linien verbunden sind. Jedoch neuere Beobachtungen mit Hilfe der Immunofluoreszenzmikroskopie zeigen, daß diese Meinung nicht mehr aufrecht erhalten werden konnte, da Tropomyosin nur in unmittelbarer Nähe - jedoch nicht in der Z-Scheibe selbst - nachgewiesen wurde (50, 198). Nach EBASHI und NONOMURA (44) gilt es als ziemlich sicher, daß α -Actinin und Actin Bestandteile der Z-Scheibe sind. Es sollen jedoch noch andere Proteine mitbeteiligt sein, da u.a. die Z-Scheibe sehr trypsinempfindlich ist, obwohl Actin und α -Actinin praktisch resistent gegen diese Enzyme sind.

Strukturuntersuchungen konnten im Laufe der letzten Jahre deutlich machen, daß die hohe Dichte der M-Linie, welche die H-Zone halbiert, auf die Anwesenheit von Querverbindungen zurückzuführen ist. Jedes Myosinfilament ist mit seinen sechs hexagonal zugeordneten Nachbarmyosinfilamenten durch eine Proteinkette (sogenanntes M-Protein (44)) verbunden. Die Funktion dieser M-Linie soll die Aufrechterhaltung der richtigen longitudinalen und lateralen Anordnung der Myosinfilamente gewährleisten (181).

Tabelle 1: Aminosäurezusammensetzung
der myofibrillären Proteine
Nach BENDALL (16)
(Zahl der Aminosäuren je 1000 Reste)

Aminosäuren	G-Actin	Tropo- myosin	Myosin	LMM	HMM
1) mit saurer Gruppe					
a) Asparaginsäure	93,5	107	98,5	98,4	96,9
b) Glutaminsäure	109	254	182	249	162
freie saure Gruppen	114	284	174	219	153
2) mit basischer Gruppe					
a) Lysin	50,2	128	107	112	102
b) Histidin	20,1	6,6	18,5	24,9	16,5
c) Arginin	48,6	49,1	49,8	71,2	40,2
3) mit polarer Gruppe					
a) Tyrosin ¹	42,9	18,0	23,2	10,7	24,9
b) Tryptophan	10,2	-	5,0	-	-
c) Serin	64,4	47,9	45,2	40,3	46
d) Threonin	75,4	31,1	51	39,1	52
e) Cystein ¹	11,9	7,8	10,2	4,7	8,7
f) Methionin	43,5	19,1	26,6	22,5	30,7
4) mit unpolarem Aminosäurerest					
a) Glycin	74,6	14,4	46,4	21,3	59,1
b) Alanin	80,7	129	90,4	96,1	86,3
c) Valin	49,7	32,3	49,8	45,1	56,7
d) Leucin	68,8	114	93,9	114	86,3
e) Isoleucin	73,2	35,9	48,7	46,3	52
f) Prolin	50,2	2,0	25,5	0	37,8
g) Phenylalanin	31,3	4,1	33,6	4,7	42,5
andere Daten (44)					
% Helix	26-30	90	57	90-100	45-50
I.P. (197)	5,0-5,1 4,7 F-actin	5,1	5,4	-	-

¹ = können auch zu den AS mit saurer Gruppe gerechnet werden

- 2.2. Myofibrilläre Proteine
- 2.2.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften
- 2.2.1.1. Kontraktile Proteine
- 2.2.1.1.1. Myosin

Der Myosinanteil der myofibrillären Proteine wird von mehreren Wissenschaftlern (180, 102, 127) mit 54 % angegeben. NONOMURA (44) veranschlagt 55 - 60 %. Aufgrund der verschiedensten Gewinnungsmethoden war das jeweils gewonnene "Myosin" uneinheitlich. So konnten BANGA und SZENT-GYÖRGYI (11) aufgrund kurzer und langer Extraktionszeit 2 "Myosinarten" mit unterschiedlichen Eigenschaften gewinnen. Erstes nannten sie Myosin A, letzteres Myosin B. Unter ähnlichen Bedingungen konnten SCHRAMM und WEBER (218) mit der Ultrazentrifuge ein schnell ("S-Myosin") und ein langsam ("L-Myosin") sedimentierendes Protein und DUBUISSON (36) durch Elektrophorese ein α - und β -Myosin differenzieren. STRAUB (227, 228) setzte dann dieser verwirrenden Namensgebung ein Ende, indem er zeigen konnte, daß die unterschiedlichen Eigenschaften der einzelnen "Myosine" dadurch zustande kamen, daß durch die längere Extraktionsdauer ein weiteres Protein herausgelöst werden konnte. Er nannte es "Actin". SZENT-GYÖRGYI (240) untergliederte daraufhin in zwei Gruppen und zählt das L-Myosin von WEBER, das "kristallisierte" Myosin von SZENT-GYÖRGYI, das β -Myosin von DUBUISSON, das T-Myosin von TSAO und das A-Myosin von SZENT-GYÖRGYI zum "actinarmen" Myosin und das S-Myosin von WEBER, das B-Myosin von SZENT-GYÖRGYI, das α -Myosin von DUBUISSON zum Actomyosin, einem Gemisch von Actin und Myosin, das im allgemeinen assoziiert vorliegt. In der Literatur wird jedoch noch häufig zwischen Myosin B und Actomyosin unterschieden. Ersteres wird auch "natürliches Actomyosin" genannt, da es direkt aus dem Muskelhomogenat gewonnen wird und außer Actin und Myosin auch noch andere Komponenten aufweist, während Actomyosin nur aus Actin und Myosin besteht. Der Begriff "synthetisches oder künstliches Actomyosin" bedeutet, daß der Proteinkomplex durch Zusammenführen gereinigter Actin- und Myosinlösungen assoziiert

ist (44). Zur Gewinnung von Myosin wird meist nach folgender, verschiedentlich modifizierter Methode (244) gearbeitet. Nach etwa 10-minütiger Extraktion mit hoher Ionenstärke und neutralem pH wird bei Ionenstärken von 0,3 KCl Actomyosin abzentrifugiert. Das Myosin wird durch wiederholte Fällung und Ultrazentrifugation gereinigt. Durch Mg-ATP-Zusatz kann noch vorhandenes Actin entfernt werden. Alle Arbeiten sind bei niedrigen Temperaturen und bei Abwesenheit von Metallionen durchzuführen.

Myosin besitzt in der Hauptsache drei physiologische Funktionen (244), nämlich eine ATP-ase Wirkung, die Fähigkeit zur Assoziation mit Actin und zur Aggregation bzw. Polymerisation zu Myosinfilamenten. Ferner soll nach neueren Erkenntnissen Myosin die Kontraktion aufrechterhalten, indem es befähigt ist, in den "aktiven Zentren" (Stellen, an denen sich Actin mit Myosin verknüpft) die Sekundärstruktur zu verändern.

HUXLEY (124) sowie KAMINER und BELL (136) zeigten, daß Myosin nach der Extraktion unter physiologischen Bedingungen wieder zu dicken Filamenten - gleich denen der lebenden Zelle - aggregiert. Das stabförmige Myosinmolekül mit den beiden "Köpfen" an dem einen Ende dürfte ein Molekulargewicht (MG) zwischen $4,65$ bis $5,25 \times 10^5$ (31, 244, 245) sowie eine Länge von $1600 \text{ \AA}$ (124, 204, 273) besitzen. Der Durchmesser des Kopfes wird mit $35 - 60 \text{ \AA}$ - neuerdings auch mit $90 \text{ \AA}$ - und der des Körpers mit $20 \text{ \AA}$ angegeben.

Zur näheren Struktur- und Funktionsaufklärung wurde in den letzten Jahren das Molekül auf verschiedene Weise chemisch gespalten. So fanden MIHALYI und SZENT-GYÖRGYI (173), daß die Verdauung von Myosin mit Trypsin zwei Produkte mit unterschiedlicher Sedimentation liefert, nämlich "Light-Meromyosin" (LMM) und "Heavy-Meromyosin" (HMM).

Die erste Untereinheit, das LMM, entspricht dem stabförmigen Teil des Myosins und ist unlöslich in niedrigen Ionenstärken, besitzt keine ATP-ase Aktivität, ist etwa $900 \text{ \AA}$ lang und besitzt einen Durchmesser von $15 - 20 \text{ \AA}$ (204, 205,

273). Dieses entstandene LMM ist nicht homogen und enthält noch eine "Fraktion 1" mit einem MG von $1,2 \times 10^5$. Sie ist zu 90 % (89) helical und enthält kein Prolin. Die zweite Untereinheit, das HMM, hingegen ist monodispers, besitzt einen Durchmesser von 600 - 900 Å, ein MG von etwa $3,4 \times 10^5$ und etwa 100 Prolinreste. HMM ist nur zu 40 - 50 % helical. Prolingehalt und die Ausbildung einer Helix sind bei all diesen Myosinuntereinheiten in etwa umgekehrt proportional, so daß nach MUELLER und PERRY (183) Prolin der Helixbildung entgegenwirken dürfte.

Durch weitere Trypsinverdauung kann das HMM in weitere drei "Bruchstücke" gespalten werden (183). Das "Subfragment-1" (S-1) tritt zweimal auf, ist sphärisch, besitzt einen Durchmesser von 90 Å (204) und ein MG von 1,0 bis $1,8 \times 10^5$ und ist mit den beiden "Köpfen" des Myosinmoleküls gleichzusetzen.

Das "Subfragment-2" (S-2) entspricht dem am HMM noch verbleibenden Anteil des "Myosinkörpers", ist also helical (zu 80 - 90 %). Das MG beträgt $6,1 \times 10^4$ und die Länge ungefähr 475 Å. PERRY und MUELLER (183) konnten ferner aufgrund dieser Versuchsanordnung beweisen, daß der stabförmige Körper die Fähigkeit zur Polymerisation besitzt sowie aus einer Doppelhelix besteht und daß jede Helix mit einem sphärischen Protein, dem "Subfragment-1" endet, das ATPase Wirkung und die Fähigkeit, sich zu assoziieren, besitzt.

Nach HUXLEY (121) hat ein Myosinfilament in der Muskelfaser eine Länge von $1,5 - 1,6 \mu$ und einen Durchmesser von 100 - 120 Å. Solche Ausmaße kann auch außerhalb einer Muskelzelle ein aus Myosinmolekülen polymerisiertes Filament unter günstigen, d.h. physiologischen Bedingungen, erreichen (132, 193). Die Aggregation hängt in erster Linie von der Ionenstärke ab (136, 193). Im Solbereich ($I > 0,3$) soll Myosin molekulardispers vorliegen. Durch Abnahme der Elektrolytkonzentration kommt es dann zunehmend zur Polymerisation, die bei einer Ionenstärke von etwa 0,2 die günstigsten Bedingungen vorfindet. ATP hat innerhalb bestimmter Grenzen einen geringgradigen Einfluß auf die Dispergierung

eines Myosinaggregates; Magnesium soll bei physiologischen Konzentrationen keinen Effekt besitzen; zunehmende Myosinkonzentration zeigt jedoch eine positive Wirkung. Wird die Ionenstärke weiterhin gesenkt, so kommt es bei $I = 0,07$ zu einer unkontrollierten Aggregation bzw. Sedimentation und die "Lösung" wird plötzlich trüb (44).

Die aus dem Myosinfilamentstamm herausragenden "Köpfe" haben zueinander jeweils einen bestimmten Abstand und sind zu den 6 umliegenden Actinfilamenten hinorientiert. Im zentralen Bereich eines Myosinfilaments (sowohl in vivo als auch in vitro) sind auf eine Länge von $0,15 - 0,2 \mu$ keine HMM-Köpfe zu finden (44).

2.2.1.1.2. Actin

Actin gilt als der Hauptbestandteil der dünnen Filamente. Sein Anteil an den myofibrillären Proteinen beträgt 20 - 25 % (44, 101, 108, 240). Die Reindarstellung von Actin ist sehr schwierig. STAUB gelang es zuerst, Actin zu isolieren (228, 229). Es war jedoch noch sehr stark mit denaturiertem Actin, mit Tropomyosin und vermutlich mit einem Flavoproteid verunreinigt (249). Diese Methode von STAUB wurde in der Folgezeit im Prinzip beibehalten. Nach intensiver, aber schonender Zerkleinerung von Muskelgewebe wird jeweils versucht, Myosin möglichst erschöpfend zu extrahieren. Der Rückstand wird dann (nach Alkalisierung) mit Aceton (228, 229) oder Butylalkohol und im Anschluß mit Aceton (249) oder mit KJ und ATP (241) behandelt, um die intramolekularen Bindungen des F-Actins zu lösen und G-Actin entstehen zu lassen. Ähnlich ist auch die Methode von BARANY, BARANY und CUBA (10), nur mit dem Unterschied, daß nach der Acetonbehandlung Actin durch KJ und ATP-Zugabe gewonnen wird, ohne vorher Myosin zu entfernen. Jedoch konnte einige Jahre später LAKI und Mitarbeiter (150) aufzeigen, daß bei all diesen Methoden 10 - 25 % Tropomyosin enthalten waren. Den Tropomyosin Gehalt konnten sie jedoch erheblich senken, indem sie die Präparation bei

0° C anstatt bei Zimmertemperatur durchführten. Eine ganz andere Methode, nämlich ohne Depolarisierung des F-Actins, wurde von HAMA und Mitarbeiter (74) entwickelt. Durch tryptische Verdauung konnten sie F-Actin, das gegen Trypsin unempfindlich ist, aus der Z-Scheibe, die dabei enzymatisch hydrolysiert wird, gewinnen, nachdem vorher Myosin erschöpfend extrahiert wurde. Das dabei erhaltene Actin nannten sie "natürliches Actin".

Die Grundeinheit des Actins, das G- (globuläre) Actin, gilt als kleinste Einheit. Selbst nach Behandlung mit verschiedenen Denaturierungsmitteln konnten auch mit der Gel-Elektrophoresetechnik keine Untereinheiten nachgewiesen werden. Es handelt sich also nur um eine Proteinkette (203). Viskositätsuntersuchungen, die mit dem MG in Beziehung gesetzt wurden, ergaben, daß es sich um einen typischen Vertreter eines globulären Proteins handelt, da G-Actin eine ideale Kugelform besitzt (28). Neue exaktere Bestimmungen des MG's, das lange Zeit auf 70.000 (248), dann auf 60.000 (178) festgesetzt wurde, ergaben etwa 46.000 (203). Der helicale Anteil im Actin liegt mit 26 - 30 % sehr niedrig (184, 185).

G-Actin weist keine Disulfidverbindung auf, jedoch 4 SH-Gruppen pro Einheit. Zwei davon (175) sowie 2 NH₂-Gruppen (67, 175) sind an der Polymerisation mit beteiligt, da durch deren Blockade diese Fähigkeit verlorengeht.

Die Polymerisation zum F-Actin, auch G-F-Transformation genannt, ist ein energieverbrauchender Vorgang. Ab einer bestimmten Ionenstärke (die Kationen sind dabei entscheidend) kann das G-Actin, das mit ATP verknüpft ist, zu F-Actin polymerisieren, wobei es zur ATP-Spaltung kommt (231). Die Anwesenheit von Kalium- oder Magnesiumionen wirkt sich besonders günstig aus (138), wobei u.a. Magnesium den Platz von Kalzium im Actinmolekül einnehmen kann und das so entstandene F-Actin stabiler wird (231). Wird die Ionenstärke nun bis auf 0,01 erniedrigt und ATP beigelegt, so kommt es zur Depolarisation. Das ADP des F-Actin wird durch ATP ersetzt, und der Ausgangspunkt ist wieder erreicht. Dieser

reversible Vorgang wird bei den meisten Actingewinnungsmethoden ausgenutzt (10, 228, 229, 241). Die Polarisation kann ferner durch Temperaturerhöhung (ohne dabei Actin zu denaturieren) (244), Myosinzugabe (240), optimalen pH (7,0 - 9,0) und Anwesenheit mehrwertiger anstatt einwertiger Ionen beschleunigt werden. Auch zunehmende G-Actin-Konzentration wirkt sich günstig aus (244).

2.2.1.1.3. Actomyosin

Das "Subfragment 1" des Myosins hat die Fähigkeit, mit F- oder G-Actin zu assoziieren. Dieser Vorgang kann sich sowohl innerhalb des noch intakten Muskels (bei Kontraktion, Totenstarre, Kälteschrumpfung) als auch beim Zusammenbringen von Actin- und Myosinlösungen abspielen (239, 160). Da der jeweils physiologische Zustand im Muskel elektronenmikroskopisch oft nicht festgehalten werden kann, müssen viele Versuche in Actin- und Myosinlösungen nachvollzogen werden (44).

Die augenfälligste Veränderung infolge Assoziation ist die plötzlich eintretende Viskositätserhöhung (239), die aufgrund der geänderten Gestalt und Größe des neu entstandenen Actomyosinkomplexes eintritt ("Pfeilspitzenstruktur" nach HUXLEY) (124). Jedoch ist dieser Vorgang nicht zwingend und wird von vielen Faktoren beeinflusst. Der Ablauf der Assoziation und Dissoziation ist noch nicht geklärt. Sicher ist, daß Anwesenheit und Konzentration von energiereichen Phosphaten (besonders Mg-ATP) und Elektrolyten (besonders zweiwertige Ionen) eine entscheidende Rolle spielen. Aber auch andere Faktoren wie z.B. das jeweilige pH und die Temperatur des Muskels bzw. des Reaktionsgemisches spielen eine Rolle (44, 244). Mg-ATP kann - je nach Bedingung - Assoziation und Dissoziation bewirken; es ist also befähigt, die Beziehung zu Actin und Myosin entweder zu aktivieren oder zu unterdrücken (44). Bei einem hohen Gehalt an Ionen und Mg-ATP kommt es im allgemeinen zur Dissoziation. Unter bestimmten Voraussetzungen (z.B. niedrige Ionenstärke und

geringe ATP-Konzentration) kann es zur Superpräzipitation oder Synärese - einer "intensiven Form der Assoziation" - kommen. Je nach Konzentration der Reaktionspartner tritt in diesem Falle dann entweder ein Niederschlag bzw. eine feinkörnige Ausflockung oder eine zusammenhängende Schrumpfung bzw. Kontraktion ein (107, 239). Der Grund für die unterschiedliche Wirkung von Mg-ATP liegt in den gegensätzlichen Aktivitäten der Subfragmentes-1. So vermag Myosin ATP zu spalten (ATP-ase Wirkung) - eine Voraussetzung für die Assoziation - und energiereiche Phosphate zu binden - eine Bedingung für die Dissoziation (44). Bindung und Spaltung von ATP dürfte sich innerhalb des Moleküls an verschiedenen Stellen vollziehen; selbst für eine Dissoziation soll nicht der Ort der ATP-Bindung verantwortlich sein (207).

Die Frage, in welchen molaren Verhältnissen Actin und Myosin assoziieren, versuchten schon viele Wissenschaftler zu beantworten, da beide "Myosinköpfe" die Fähigkeit zur Assoziation besitzen (44, 244). Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen neigt man jetzt zu der Vorstellung (241), daß sich nur eine Actinuntereinheit mit einem der beiden "Subsegmente" verbindet (124, 244). Interessant ist ferner, daß nach TONOMURA (244) nur einer der beiden "Myosinköpfe" zur ATP-Spaltung befähigt ist und daß dieses Subsegment mit der ATP-ase Wirkung eine intensivere Vereinigung mit Actin eingehen kann.

2.2.1.2. Regulatorische Proteine

2.2.1.2.1. Tropomyosin und Troponin-Komplex

BAILEY (9) entdeckte 1946 ein neues Muskelprotein, das Tropomyosin, dessen Anteile an den Myofibrillen etwa 4,5 % beträgt (244). Es handelt sich um ein sehr stabiles Protein, das unempfindlich gegen Lösungsmittel ist (59) und dessen chemischer Aufbau aus diesem Grunde weitgehend aufgeklärt ist. Tropomyosin, ein asymmetrisches Protein, kann leicht bei geringen Ionenstärken gewonnen werden (33). Je-

doch ist es immer mit Troponin verunreinigt. Das MG - lange Zeit mit 53.000 berechnet (147) - soll nun 63.000 betragen (26). Die Länge wird von TSAO mit 385 Å (250) und von CASPAR (26) mit 402 Å angegeben. Tropomyosin besitzt eine durchgehend α -helicale Struktur (254). Interessant ist ferner die Feststellung von BAILEY (9), daß Actin und Tropomyosin zusammen (je 50 %) die gleiche Aminosäurezusammensetzung haben wie Myosin (siehe Tabelle 1).

WOODS (267) nimmt an, daß das Protein aus zwei gleich großen Untereinheiten, die durch eine Disulfidbrücke verbunden werden, aufgebaut ist. Ferner ist Tropomyosin auch zur Aggregation befähigt. Jedoch ist bemerkenswert, daß sich dabei die Sedimentationslage ändert und kein thixotroper Effekt eintritt. Die Geschwindigkeit der Aggregation nimmt mit zunehmender Ionenstärke ab (9, 250). MARUYAMA (164) konnte ferner feststellen, daß Tropomyosin zu einer leicht reversiblen Assoziation mit F-Actin befähigt ist sowie die Assoziation von Myosin und Actin begünstigt, jedoch nur bei für diesen Vorgang geeigneten Bedingungen; sind die Voraussetzungen aber günstig für die Dissoziation, so unterdrückt Tropomyosin die Assoziation.

Nach EBASHI (39) ist Tropomyosin für die Ca-Sensibilität bei der Muskelarbeit verantwortlich.

In der Folgezeit konnte aber festgestellt werden, daß dafür eigentlich ein anderes Protein, nämlich Troponin, verantwortlich ist (42), das jedoch mit dem Tropomyosin in Verbindung steht. Bei der Darstellung von Troponin wird im allgemeinen zuerst der ganze Tropomyosin-Troponin-Komplex, der auch natives Tropomyosin" (40) bezeichnet wird, gewonnen und anschließend getrennt (40, 219). Troponin ist gegen denaturierende Substanzen nicht, gegen enzymatische Hydrolyse jedoch sehr empfindlich. Es besitzt die seltene Fähigkeit, Kalzium selektiv zu binden ($4 - 5 \text{ Mol}/10^5 \text{ g}$). Die Anwesenheit anderer mehrwertiger Kationen, wie z.B. Mg hat darauf keinen Einfluß.

Troponin ist ein globuläres Protein, dessen MG von 44.000

bis 86.000 (43) schwankt. Gewonnenes Troponin enthält praktisch immer geringe Mengen von Tropomyosin und α - und β -Actinin (44). Bei einem pH von 1,0 und mit 1,2 mol KCl entstehen zwei Untereinheiten von unterschiedlicher Größe und Wirkung, nämlich Troponin A und B. Ersteres besitzt die Kalziumbindefähigkeit und letzteres kann die ATP-ase Wirkung von Actomyosin inhibieren (219).

2.2.1.2.2. α - und β -Actinin

Als die beiden Proteinfractionen (α -Actinin von EBASHI (41) und β -Actinin von MARUYAMA (165)) entdeckt wurden, glaubte man - besonders aufgrund des Aminosäuremusters - actinähnliche Proteine gefunden zu haben, jedoch stellte sich später heraus, daß diese Fraktionen große Mengen eines noch nicht näher bekannten Proteins (man nennt es "10 S-Komponente") enthielten (194).

α -Actinin kann bei sehr niedrigen Ionenstärken (weniger als 0,003) aus den Myofibrillen extrahiert werden (41). Die Darstellung gelingt am besten mit Ammoniumsulfat. Jedoch ist sehr genaues Arbeiten notwendig, weil sonst die "10 S-Komponente", die anschließend schlecht von α -Actinin zu trennen ist, ebenfalls extrahiert wird. Zuvor muß Myosin und das M-Protein mit einer Hasselbach-Schneider-Lösung entfernt werden. Werden M-Protein und α -Actinin gemeinsam extrahiert, sind sie nicht mehr voneinander zu trennen. (167).

α -Actinin besitzt eine Affinität zum F-Actin und beschleunigt dessen Neigung, ein Gel zu bilden, zeigt aber keine Affinität zu G-Actin. Ferner begünstigt α -Actinin die Superpräzipitation von α -actininfreiem Actomyosin, d.h. die Schrumpfung bei ATP-Anwesenheit (41). Trotz dieser bemerkenswerten Eigenschaften nimmt man derzeit an, daß es nicht direkt mit dem Kontraktionsmechanismus in Zusammenhang steht, sondern ein Bestandteil der Z-Linie ist (44).

β -Actinin, ein globuläres Protein mit einem MG von 60.000, kann durch KJ-Extraktion dargestellt werden (ähnlich wie

α -Actin). Bei dieser Methode bleibt jedoch ein großer Teil im Muskel zurück. Das Protein enthält außerdem Verunreinigungen (165).

Die Wirkung von β -Actinin kann nur im Zusammenhang mit Actin gesehen werden. Es konnte gezeigt werden (165, 166), daß β -Actinin intramolekulare Verbindungen innerhalb eines F-Actinmoleküls verhindert und so z.B. eine Reassoziierung von F-Actinfragmenten hemmen kann. Ursprünglich war man der Meinung, daß die Actinfilamente durch β -Actinin eine einheitliche Länge erhalten (166). Es hat sich aber gezeigt, daß β -Actinin zwar F-Actin verkürzen, jedoch deren Länge nicht nivellieren kann. Diese Eigenschaft schreibt man jetzt dem Myosin zu (272).

2.2.1.2.3. Andere myofibrilläre Proteine (44)

Paramyosin (bisher nur aus Muskeln von Nicht-Wirbeltieren zu gewinnen)

M-Protein (in der M-Linie lokalisiert)

γ -Komponente (in der gesamten A-Bande nachzuweisen)

Fibrillin (nach Entfernung aller Strukturproteine noch vorhanden)

2.2.2. Kolloidchemisches Verhalten

Alle myofibrillären Proteine zählen zu den kolloiden Stoffen, da die Moleküle - selbst im "gelösten" oder "dispergierten" Zustand (molekulardispers) - relativ groß sind und sich ihre Abmessungen innerhalb der festgelegten Grenzen von 10 - 1000 Å bewegen (207). Die physikalisch-chemische Struktur dieser Makromoleküle und ihre strukturelle Organisation innerhalb der Muskelfaser bedingen das für die Fleischtechnologie so bedeutende kolloidchemische Verhalten, das sich besonders auf Wasserbindungs- und Quellungsvermögen der myofibrillären Proteine auswirkt (121).

Außer Größe und Form der Moleküle (siehe 2.2.1.), die sich

insbesondere auf Extraktionsfähigkeit und Viskosität der Proteinlösungen auswirken (197), sind ebenso die Sekundär- und Tertiärstruktur der Polypeptidketten für das kolloid-chemische Verhalten von Bedeutung. Zur charakteristischen räumlichen Anordnung der Proteinkette, die sich im Falle der Myofibrillen einerseits helical, doppelhelical oder ungeordnet, andererseits globulär oder fibrillär darstellen können, kommt es aufgrund von Haupt- und Nebenvalenzbindungen, wobei erstere besonders den Disulfidbrücken gleichzusetzen sind und letztere den Wechselwirkungen durch "van der Waals'sche Kräfte", unpolare Seitenketten, Wasserstoffbrücken und durch elektrostatische Abstoßung (207).

Ein mit der physikalisch-chemischen Struktur direkt im Zusammenhang stehender Begriff ist die Hydratation. Darunter versteht man eine direkte Anlagerung von Wassermolekülen aufgrund ihres Dipolcharakters an die dissoziierten (sauren, basischen) und polaren Gruppen (siehe Tabelle) der Proteinseitenketten. Die Anlagerung von Wassermolekülen um die entsprechenden Gruppen des Proteins kann in mehreren Schichten erfolgen und ist so intensiv, daß das so gebundene Wasser jede Bewegung des Proteins mitmacht. Der Dipolcharakter des Wassers entsteht dadurch, daß sich die zwei positiv geladenen Wasserstoffkerne und das zweifach negativ geladene "Sauerstoffion" innerhalb des insgesamt gesehen neutralen Wasserstoffmoleküls gegenüberstehen (111, 207).

Nach BULL und BREEZE (24) kann ein polarer Rest sechs Wasserdipole binden. Inwieweit die Peptidgruppe ($-\text{CO}-\text{NH}-$) zur Hydratation befähigt ist, wird in der Literatur unterschiedlich beantwortet (54, 171, 255). So sollen nach ESIPOVA und CHIRGADZE (54) z.B. die Peptidbindungen des Tropomyosins aufgrund der Helixkonfiguration nicht zur Hydratation befähigt sein. Nach HAMM (93) sind etwa 4 - 5 % des gesamten, im frischen Muskel enthaltenen Wassers hydratisch gebunden. Das Ausmaß der Hydratation wird durch pH- und Strukturveränderungen - wie sie bei der postmortalen Glykolyse und beim Denaturieren eintreten - kaum beeinflusst (93, 115).

Vergleicht man die Hydratation mit der Löslichkeit der entsprechenden Proteinfractionen, so verlaufen beide nicht parallel. So sind nach HAUROWITZ (111) die Struktur (Art der Aminosäurereste, Sekundärstruktur), das jeweilige pH, die Proteinkonzentration und die intra- und intermolekularen salzähnlichen Bindungen zwischen den positiv und negativ geladenen Gruppen für die Löslichkeit von größerer Bedeutung als für die Hydratation.

Das eben über die Löslichkeit Gesagte gilt in gleicher Weise auch für das Wasserbindungsvermögen des Fleisches, das die durch Hydratation gebundene Wassermenge bei weitem übersteigt. Der Begriff der "Wasserbindung" ist nicht exakt zu definieren, da die für die Bestimmung möglichen Methoden - meist Preß- oder Erhitzungsmethoden - unterschiedliche Ergebnisse bringen. Die Wasserbindung ist definiert als die Fähigkeit des Fleisches, eigenes oder auch zugesetztes Wasser bei Anwendung irgendeiner Kraft festzuhalten (75). Eine enge Beziehung zum Wasserbindungsvermögen besitzt der Begriff "Quellung", worunter man die Wasseraufnahme des Fleisches aus der Umgebung versteht. Beide Begriffe - Wasserbindung und Quellung - können auf dieselben physikalisch-chemischen Eigenschaften des Fleisches zurückgeführt werden (79, 92, 263). Aufgrund der Struktur des Fleisches ist die Quellung jedoch nach oben begrenzt, da sich die Volumenvergrößerung ohne Strukturverlust vollzieht ("begrenzte Quellung"). Von "unbegrenzter Quellung" spricht man, wenn die Flüssigkeitsaufnahme nicht zum Stillstand kommt und der zuerst feste Körper (z.B. konzentrierte Actomyosingele) unmerklich kolloidal gelöst wird und in den Solzustand übergeht (207). Im Gegensatz zur Hydratation sind für Wasserbindung und Quellung die intermolekularen Beziehungen entscheidend. So sollen nach HAMM (249) sowohl die Disulfidbrücken und die "Salzbindungen" (zwischen positiven und negativen Gruppen) als auch Wasserstoffbindungen zwischen den -CO- und -NH-Gruppen der Peptidbindungen das kolloidchemische Verhalten entscheidend beeinflussen. Ferner ist HAMM der Meinung, daß die Sulfhydryl- und Hydro-

xylgruppen der Proteine an der Wasserstoffbrückenbildung beteiligt sind und daß die im Muskel vorhandenen zweiwertigen Kationen befähigt sind, zwischen zwei negativ geladenen Gruppen eine Brückenbildung zu schaffen. Da sich ferner positive und negative Ladungen innerhalb eines Moleküls nach außen hin aufheben, ist vor allem die Nettoladung, die für alle in der Lösung sich befindlichen Proteine eines Typs jeweils gleich ist, entscheidend, wie stark die Abstoßung der Kolloidteilchen ist. Bei einem bestimmten pH, dem isoelektrischen Punkt (I.P.), erreicht die Ladung den Wert Null, und es kommt zur Koagulation. Der I.P. ist für die einzelnen Proteine verschieden (siehe Tabelle) (111, 207).

Das freie oder immobilisierte, nicht hydratisch gebundene Wasser unterscheidet sich vom "wahren Hydratwasser" in vielerlei Hinsicht. So ist bei letzterem der Gefrierpunkt, Dampfdruck und das Lösungsvermögen niedriger, die Dichte aber höher als bei normalem Wasser, während das immobilisierte Wasser keine Eigenschaftsveränderungen zeigt (56, 71, 199). Dieses freie Wasser wird durch keine polaren und dissoziierten Gruppen elektrostatisch festgehalten, sondern hauptsächlich durch die Struktur und das Netzwerk der Filamente und Membrane gebunden (109). Inwieweit auch die hydrophoben bzw. unpolaren Aminosäurereste (siehe Tabelle) für die Immobilisierung von Wasser verantwortlich gemacht werden können, wie es mehrfach (141, 156, 188) angenommen wird, ist noch nicht geklärt. Nach HAMM (84) befindet sich der größte Teil des freien Wassers - etwa 70 % - im fibrillären Gefüge der Proteine; im Sarkoplasma hingegen werden nur 20 % und im extrazellulären Raum etwa 10 % vorgefunden. Wird die Muskelfaser - vor allem das Sarkolemm - durch mechanische Behandlung zerstört, so steigen die Werte der Quellung und Wasserbindung stark an. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften, besonders die elektrostatische Abstoßung aufgrund der Nettoladung, können jetzt mehr zur Geltung kommen. Diese Nettoladung kann einmal durch Elektrolytwirkung und zum anderen durch die Wasserstoffionenkonzentration verändert werden.

Bei der postmortalen Glykolyse kommt es zum pH-Abfall. Durch die steigende H-Ionenkonzentration wird die Dissoziation der sauren Gruppen zurückgedrängt. Die Differenz zwischen den sauren und basischen Gruppen verringert sich, und die Abstoßung infolge der abnehmenden negativen Nettoladung wird geringer. Das Protein nähert sich dem isoelektrischen Punkt. Muskelgewebe, Myofibrillen und Actomyosin verhalten sich hinsichtlich der pH-Abhängigkeit in bezug auf Wasserbindungsvermögen und Quellung analog (69, 82, 88). Am I.P. besitzen die Proteine zueinander die größte Affinität, da die basischen und sauren Gruppen in gleicher Anzahl dissoziiert sind. Die Anzahl der elektrostatischen Querverbindungen ("Salzbrückenbindungen") kann sich dadurch steigern. Wasserbindung, Quellung und Löslichkeit sind unter diesen Voraussetzungen am geringsten. Aufgrund dieser Vorgänge wird ein Teil des von den Myofibrillen immobilisierten Wassers in das Sarkoplasma und die intrazellulären Räume abgegeben (75). Eine sowohl auf der sauren als auch basischen Seite stattfindende pH-Veränderung, die den Abstand zum I.P. vergrößert, führt zu einer sprunghaften Verbesserung der Wasserbindung und Quellung. HAMM (82) konnte jedoch zeigen, daß diese pH-Wirkung nur innerhalb des pH-Bereiches von 3,5 - 10,0 gilt. Daß es durch pH-Erhöhung an der basischen Seite zu einer zunehmenden Auflockerung der Fibrillenstruktur kommt, konnte PORTZEHL (201) elektronenmikroskopisch aufzeigen. Den größten Einfluß auf die Verbesserung der kolloidchemischen Eigenschaft im praxisnahen pH-Bereich von 5,5 bis 7 soll der Aminosäurerest von Histidin besitzen, da er innerhalb dieser 1,5 pH-Einheiten praktisch vollständig dissoziiert, während alle anderen dissoziierbaren Aminosäuren hauptsächlich bei einem anderen pH zum Ladungsträger werden (75, 249). HAMM (75) macht für die Alkali- und Säurequellung drei verschiedene Effekte geltend, nämlich Spaltung von Salzbrückenbindungen, elektrostatische Abstoßung durch Erhöhung der Nettoladung und die osmotische Wirkung der ins Innere von Micellen diffundierenden kleinen Ionen. Bei Actomyosin gilt analog das gleiche, nur daß die osmotische Wirkung zwangsläufig weg-

fällt. So konnte gezeigt werden, daß die Festigkeit des Proteinnetzwerkes um so stabiler ist, je größer die intermolekularen Anziehungskräfte sind.

Der oben erwähnte Begriff der "Hydratation" wird in der Literatur jedoch häufig als Wechselwirkung zwischen Muskelgewebe und Wasser verstanden. Er ist also nicht mit der chemisch-physikalischen Definition der Hydratation identisch.

2.3. Wirkung von Elektrolyten auf fibrilläres Eiweiß

Um die Wirkung von Salzen auf Muskeleiweiß vergleichen zu können, wird häufig der Begriff der Ionenstärke (I) verwendet. Er gilt als mathematische Größe, die die Wirksamkeit der die Bewegungsfreiheit der Ionen in einer Lösung behindernden Kräfte abschätzt und gleich der Hälfte der Summe der Produkte aus der Ionenkonzentration und dem Quadrat der Wertigkeit der einzelnen Ionen ist ($I = 1/2 (C_1 Z_1^2 + C_2 Z_2^2 + \dots)$) (207). Um jedoch die jeweilige Gesamtionenstärke eines "Fleisch-Salz-Gemisches" zu erhalten, sind auch die fleischeigenen Elektrolyte zu berücksichtigen. DUBUISSON (38) gibt dafür einen Wert von 0,25 an. HASSELBACH, HOPFSCHNEIDER, KASPER und LUTZ (107) errechneten für die physiologische Ionenstärke unter Berücksichtigung der organischen Ionen - vor allem des ATP's und dessen Hydrolysate - einen Wert von ungefähr 0,24 und aufgrund der anorganischen Salze einen Wert von 0,16. Nach HAMM (88) soll jedoch ein Großteil der Untersuchungen, die die Wirkung von Neutralsalzen und Phosphaten bei jeweils gleichen Ionenstärken gegenüberstellen, wenig aufschlußreich sein, da Polyphosphationen eine spezifische Wirkung auf das Muskeleiweiß haben. Ferner sollen nur Ionenstärken miteinander in Beziehung gesetzt werden, wenn die zu vergleichenden Ionen eine relativ kleine kugelförmige Gestalt und keine höheren Wertigkeiten als 3 aufzuweisen haben.

Der Großteil der physiologisch im Muskel vorhandenen Ionen steht jedoch mit den Proteinen in Wechselwirkung. So sollen Na-Ionen zu 70 % (32) - bei K-Ionen ist es ähnlich (168, 189) - an das Protein gebunden sein. Nach ROME (206) dürfte deshalb die Ionenstärke im unbehandelten Muskel nur 0,015 betragen.

Um einen Versuch jeweils den Praxisbedingungen gleichzusetzen, ist außer der Ionenstärke auch noch die Proteinkonzentration, also das Maß der Verdünnung entscheidend.

Im folgenden wird die Elektrolytwirkung auf das kolloidale

Verhalten des fibrillären Eiweißes behandelt. Die Salzwirkung auf Geschmack, Umrötung, Zartheit und Haltbarkeit bleibt unberücksichtigt.

2.3.1. Direkte Salzwirkung

2.3.1.1. Neutralsalze

Bei der Anwendung verschiedener Neutralsalze treten unter vergleichbaren Bedingungen (gleiche Ionenstärke, gleiches Ausgangsmaterial) in bezug auf das Wasserbindungsvermögen des Fleisches erhebliche Unterschiede auf. Aus diesem Grunde und auch infolge der Tatsache, daß die einzelnen Salze bei unterschiedlichen pH-Werten ein wechselndes Wasserbindungsvermögen zeigen, kann der Einfluß der Salze zumindest nicht ausschließlich osmotisch erklärt werden (190, 195).

Der Salzeffekt auf die Muskelproteine resultiert jeweils aus der unterschiedlichen Affinität (63) bzw. Absorptionskraft (223) der Anionen und Kationen. GHOSH und MIHALYI (63) sowie SCATCHARD und BLACK (214) konnten eine pH-Veränderung bei salzfreien Proteinlösungen nach Zugabe von Neutralsalzen feststellen. Je nach der Menge an gebundenen Anionen bzw. Kationen kommt es bei ersteren zu einer pH-Erhöhung gewissen Ausmaßes und bei letzteren zu einer Erniedrigung. ANDO und Mitarbeiter (6) konnten ferner feststellen, daß sich bei NaCl-Zusatz sowohl die sauren als auch die basischen Gruppen bedeutend erhöhen. Die Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration soll dadurch zustande kommen (88, 140), daß es bei einer Bindung oder "Abschirmung" von basischen Gruppen durch Anionen zu einer Protonenaufnahme durch die Carboxylgruppen, die zuvor mit den basischen Gruppen elektrostatisch in Beziehung standen, kommt. Bei einer Kationenbindung ist es entsprechend umgekehrt, und es kommt zu einer H-Ionenabgabe an die Umgebung. Dem widerspricht jedoch die Beobachtung von MÖHLEH und KIERMEIER (176). Sie stellten fest, daß ein Kochsalzzusatz von 5 % das pH erniedrigen soll und erklärten dies mit einem Austausch von Natrium- und H-Ionen.

HAMM (79) übernahm die Methode von GHOSH und MIHALYI und bestimmte die unterschiedliche Ionenbindung aufgrund dieser pH-Verschiebung mit Muskelhomogenaten anstatt mit Myosinlösungen. Die Ergebnisse zeigen u.a. gute Übereinstimmung mit den Aussagen von SCHRAMM (217) sowie BRAHMS und BREZNER (22). So steigt die Anionenbindung an das Muskeleiweiß in der Reihenfolge $\text{Br}^- < \text{Cl}^- < \text{J}^- < \text{CNS}^-$, $\text{SO}_4^{--} < \text{NO}_2^-$. Ähnliches wurde von ERDÖS (53) und LAKI (149) festgestellt, die außerdem noch die Ionenabsorption mit dem Atomgewicht in Beziehung setzten. Die Kationenbindung nimmt nach HAMM in der Reihenfolge $\text{K}^+ < \text{Na}^+ < \text{Li}^+ < \text{Ca}^{++} < \text{Mg}^{++}$ zu. Diese Werte verglich HAMM (79) mit dem Wasserbindungsvermögen. Dabei untersuchte er jeweils die Anionen in Form von Na-Salzen und die Kationen jeweils als Chloride bei pH 3,5 bzw. 5,5 und 6,4 und bei verschiedenen Ionenstärken. Die Ergebnisse aus dieser groß angelegten Versuchreihe stimmen mit der Hofmeisterschen Reihe gut überein. Für die ebenfalls durchgeführten Quellungsversuche gilt dasselbe. Nach HAMM (79) besteht somit zwischen Wasserbindung und Quellung eine hochgesicherte Korrelation. Es zeigte sich ferner, daß das Wasserbindungsvermögen stark vom pH und der Salzkonzentration abhängt. Bei pH 5,5 und besonders 6,4 erhöhen alle Salze die Wasserbindung, während es bei 3,5 zu einer Verschlechterung kommt. Aufgrund einer genauen Analysierung und Gegenüberstellung dieser sowie noch weiterer Versuche entwickelt HAMM (88) folgendes Modell: Die Anionen besitzen im allgemeinen eine größere Affinität zum Protein als die Kationen, deshalb wird die negative Nettoladung des Proteins auf der basischen Seite des I.P. größer, da sich durch die Anionenbindung die positiven "Ladungsträger" verringern. Der I.P. wird zur sauren Seite hin verschoben. Auf der sauren Seite des I.P. ist die Nettoladung positiv, und so wirken sich hier die Anionen und besonders solche mit großer Affinität negativ auf die Wasserbindung aus, da die Nettoladung und somit auch die Entfernung zum I.P. geringer wird. Mit zunehmendem pH wird jedoch die Affinität des Anions geringer und die des Kations größer, so daß es im basischen Bereich des I.P. zu einem Wasserbindungs-

und Quellungsoptimum kommt, an dem die Differenz der Anionen- und Kationenabsorption am größten ist. Ferner kommt es nach HAMM mit steigender Salzkonzentration zu einer zunehmenden Ionenabsorption, jedoch in unterschiedlicher Weise. Er versuchte dies mit Acetatsalzen zu beweisen. So soll bei einem Vergleich mit Na- und Mg-Acetat bis zu einer Ionenstärke von 0,2 die Kationenabsorption überwiegen, während bei hohen Ionenstärken dann die Wirkung der Anionen dominiert.

Das Letztgesagte paßt auch in die Vorstellung von SARKAR (211, 212), der den I.P. von Myosin und K^{+} - und Mg^{++} -Salzen mittels der Präzipitation bestimmte. Auch die Reihenfolge der Affinität der einzelnen Anionen (nach HAMM) geht mit der Fähigkeit, den I.P. zu verschieben (nach SARKAR), konform (212).

Die Verschiebung des I.P. zur basischen Seite hin gelingt naturgemäß nur bei salzfreien Eiweißlösungen bzw. Myofibrillen, so daß ein Elektrolytzusatz - auch bei sehr geringen Konzentrationen - zu Fleischhomogenaten immer zu einer Verbesserung der Kolloidik führt. Eine Ausnahme hierzu stellt das $ZnCl_2$ dar, da das Cl^{-} eine geringere Affinität als das Zn^{++} besitzt (79).

SARKAR (211) konnte ferner feststellen, daß bei ATP-Zusatz eine I.P.-Verschiebung in den basischen Bereich stets unterbleibt. Dem Mg^{++} räumte er ebenfalls einen Sondereffekt ein, da Spuren von $MgCl_2$ (0,001 m) bei Zusatz von ebenfalls geringen Mengen KCl (0,05 m) den I.P. bereits zur sauren Seite hin verschieben, während die beiden Salze allein diese Wirkung erst bei jeweils 0,3 molaren Konzentrationen zeigen. SARKAR deutet es dahingehend, daß Mg-Myosinat eine ausgeprägte Wirkung zum Cl^{-} aufweist. Auch SWIFT und ELLIS (235) sprechen von einem Sondereffekt des Mg^{++} , ebenso wie des J^{-} . Nach HAMM (88) ist jedoch die Wirkung beider Ionen aufgrund der Stellung in der lyotropen Reihe zu erklären, wo hingegen die Wirkung der Fluoride gesondert betrachtet werden muß, da es sich um äußerst reaktionsfreudige Ionen handelt, die vor allem die Ca-Ionen zu binden vermögen.

Die stärkere dehydrierende Wirkung der zweiwertigen Ionen im Vergleich zu den einwertigen kann auch aufgrund einer zunehmenden inter- und intramolekularen Brückenbildung mit verursacht werden und nicht nur infolge der unterschiedlichen Affinität (21, 88).

Nach SZENT-GYÖRGYI (239) sowie WEBER und PORTZEHL (261) kommt dem Neutralsalz - jedoch nur bei Ionenstärken von über 0,4 (239) bzw. 1,0 (261) - auch ein das Actomyosin dissoziierender Effekt zu. SZENT-GYÖRGYI (239) belegte diese Wirkung aufgrund einer bei steigenden Ionenstärken kontinuierlichen Viskositätserniedrigung, die bei $I = 0,4$ beginnt und bei $I = 2,0$ annähernd den Wert einer durch ATP vollständig dissoziierten Lösung annimmt.

Die Wirkung von Neutralsalzen auf die Löslichkeit (Gel-Solzustand) wurde von HASSELBACH und Mitarbeiter (107) untersucht. Sie hängt von der Ionenstärke, dem pH und der Anwesenheit von ATP ab. Einen spezifischen Effekt und evtl. unterschiedlich wirkende Anionen oder Kationen konnten sie nicht feststellen.

2.3.1.2. Salze schwacher Säuren

Bei einem Vergleich des Wasserbindungsvermögens durch Phosphate und Citrate mit der lyotropen Reihe fällt auf, daß diese Salze trotz geringer Affinität zu den Proteinen eine positive Wirkung auf die "Kolloidik" der myofibrillären Proteine zeigen. Die Wirkung geht nicht mit der Ionenabsorption konform (92). Da bei anderen Proteinen (z.B. Serumalbumin, Gelatine, Kollagen) eine dehydrierende Wirkung durch anorganische Salze schwacher Säuren eintritt, müssen diese Salze einen Sondereffekt auf das Muskeleiweiß ausüben (76, 177). Die zur Anwendung kommenden Salze zeigen im gelösten Zustand eine sehr unterschiedliche pH-Wirkung (58, 172). Die pH-Veränderung ist jedoch relativ gering, da das Fleisch bzw. Brät im pH-Bereich von 5,5 bis 7,0 eine gute Pufferwirkung besitzt (70). So besteht zwar eine Beziehung zwischen pH-Verschiebung und Hydratations-

effekt, jedoch vermag der pH-Effekt die unterschiedliche Salzwirkung nicht hinreichend zu erklären, da auch durch pH-Einstellung relativ große Unterschiede im kolloidalen Verhalten festzustellen sind.

Nach FURIA (58) läßt sich die Phosphatwirkung zum Teil auf die Struktur der Mono-, Di- und Polyphosphate und auf die Tatsache, daß es sich um "Polyelektrolyte" handelt, zurückführen.

Wertigkeit und Ionenstärke - zwei Begriffe, die zueinander in Beziehung stehen - zeigen jedoch nach HAMM (92) (im Gegensatz zur Schultze-Hardy-Regel und zu LOEB (158)) keine Korrelation zum Wasserbindungsvermögen, wenngleich höherwertige Phosphate im allgemeinen eine günstigere Wirkung auf die Hydratation zeigen als niedriger- bzw. einwertige.

GRAU und HAMM (76, 92) setzten zweiwertige Ionen - besonders Ca^{++} und Zn^{++} - im Fleisch mit der Hydratation in Beziehung. Sie unterscheiden grundsätzlich in proteingebundene und ionisiert vorliegende bzw. sehr locker gebundene Erdalkali. Durch pH-Erhöhung soll sich das Verhältnis zugunsten der proteingebundenen Erdalkali verschieben. Durch den Entzug mehrwertiger Kationen konnten sie eine signifikante Erhöhung des Wasserbindungsvermögens erzielen. Der dehydratisierende Effekt der Erdalkalimetalle wurde mit entsprechenden Acetatsalzen aufgezeigt und ist aufgrund von Querbrückenbildungen und einer damit verbundenen Strukturverdichtung zu verstehen. Auch SWIFT und BERGMANN (234) fanden eine hochsignifikante negative Korrelation zwischen Wasserbindung und Magnesium- bzw. Kalziumkonzentration, während SWIFT und ELLIS (235) mit MgCl_2 - im Gegensatz zu CaCl_2 - einen positiven Einfluß auf die Hydratation feststellten. Nach HAMM (88), der sogar mit CaCl_2 eine positive Wirkung erzielt hat, ist das jedoch kein Widerspruch, da die Affinität der Chloridionen in bezug auf das Muskelgewebe bei höheren Konzentrationen stärker ist als die der Kalzium- und Magnesiumionen. Die starke positive Wirkung der Anionen wird durch die schwächere negative Wirkung der

Kationen - insbesondere der Magnesiumionen - somit nur zum Teil aufgehoben.

Die Hauptfunktion - jedoch nicht alleinige Wirkung - der Salze von anorganischen Säuren besteht nach HAMM (92) nun darin, diese Erdalkalitionen zu fällen. MORSE (182), INKLAAR (130) und SHERMANN (223) schließen sich dieser Meinung an, während BENDALL (15), KOTTER (144) sowie SWIFT und ELLIS (235) diese Hypothese ablehnen. BENDALL (15), SWIFT und ELLIS (235) gehen in ihrer Behauptung sogar so weit, daß sie dem Magnesiumion nicht nur keinen negativen, sondern z. T. sogar einen positiven Effekt auf das Wasserbindungsvermögen zuschreiben. Auch HELLENDORF (113) konnte nach vollständiger Entfernung der Kalziumionen - allerdings aus gekochtem Fleisch - keine Verbesserung der Wasserbindung feststellen. Die meisten Kritiker dieser "Erdalkalifällungstheorie" führen an, daß das Wasserbindungsvermögen mit der Ionenkomplexbindung der einzelnen Salze nicht konform geht. So haben die Diphosphate kein allzu gutes Kalziumbindungsvermögen, während ihre Hydratationseigenschaft ausgezeichnet ist (77, 66). SHERMANN (223) vergleicht Na_4EDTA mit den Polyphosphaten und stellt ebenfalls fest, daß die Ergebnisse in bezug auf die beiden Eigenschaften nicht übereinstimmen. Die Unterschiede werden bei NaCl -Zugabe noch größer. Als Erklärung gibt HAMM (88) an, daß das EDTA-Molekül aufgrund seiner Größe und Form evtl. schwerer an die mit Erdalkalitionen in Beziehung stehenden funktionellen Gruppen herankommt.

ACS, BIRO und STRAUB (1) stellten fest, daß Myosin anorganische Phosphate zu binden vermag und daß die Absorption besonders durch Magnesium vermittelt werden kann.

YASUI (269, 271) teilt die Phosphate in zwei Gruppen ein: direkt wirkende Phosphate (Dimetaphosphat), die sich ohne Kationen an das Protein anheften, und indirekt wirkende Phosphate (Polyphosphat), deren Affinität nur bei Kationen-anwesenheit (besonders Mg^{++}) begünstigt wird. Auch LYONS und SIEBENTHAL (162) sind der Meinung, daß sich Phosphat außer der Bindung über proteingebundene Erdalkalitionen auch direkt an die sauren Gruppen des Proteins anlagern kann.

Es besteht auch durchaus die Möglichkeit, daß bei Zusatz von Monophosphat und Polyphosphat der I.P. des Muskeleiweißes analog zu den Neutralsalzen zu niedrigeren pH-Werten verschoben wird, zumal sie auf der sauren Seite des I.P. das Wasserbindungsvermögen des Fleisches herabsetzen (83, 113, 223). Das Poly- und Diphosphation soll dabei stärker gebunden werden als das Monophosphat. GERRITSMA (60) und SCHRAMM (217) halten ebenfalls eine Verschiebung des I.P. durch Absorption polyvalenter Phosphationen für möglich, wobei SCHRAMM noch die Bindung der mehrwertigen Ionen - Phosphate, aber auch Ca, Mg - für fester hält als die der einwertigen. Auch HAMM (88) räumt ein, daß z.B. eine zwischen zwei sauren Gruppen sich befindliche "Mg-Brücke" bei Anwesenheit von Phosphaten aufbrechen kann und daß auf diese Weise ein Protein-Mg-Phosphat-Komplex entstehen kann. Dies stellt gleichzeitig eine Möglichkeit der Auflockerung der Proteinstruktur dar. So konnte durch Untersuchungen mittels Lichtstreuungsveränderungen festgestellt werden, daß sich die Bindungen zwischen den Actin- und Myosinfilamenten und die Kohäsionskräfte zwischen den Myosinfilamenten verringern (201). Dies würde auch für die Behauptung von KOTTER (144) sprechen, daß Phosphate "peptisierend" auf das Muskeleiweiß wirken, während LERCHE (153) behauptet, daß gerade durch Phosphate die alte Gewebsstruktur erhalten bleibt.

YASUI und Mitarbeiter (271) hingegen bezweifeln, daß sich Di- und Triphosphate mittels "Erdalkali" an eine Proteinkette anheften können und lassen nur einen unspezifischen Ioneneffekt gelten.

KOTTER (144) erklärt die Tatsache, daß bestimmte Phosphate, besonders Diphosphate nach Entfernung der "Erdalkali", kaum die Hydratation verbessern, damit, daß gleichzeitig auch ein Großteil der für die Bindung an das Eiweiß notwendigen Mg-Ionen entfernt wird. Zusammen mit anderen Wissenschaftlern (5, 14, 37, 107, 163, 230, 259) betont er, daß die "Weichmacherwirkung" außer durch MgATP z.B. auch durch Diphosphate und Tripolyphosphat bei Anwesenheit von Magnesium-Ionen zu

erhalten ist. Auch YASUI (269) kommt zu diesem Schluß, da er nur bei der Anwesenheit von Mg-Ionen mit Diphosphat eine Dissoziation erreichen konnte. Die dissoziierende Wirkung kann nur mit Magnesium-Phosphaten (64) und nicht mit den entsprechenden Kalziumsalzen (92) erreicht werden.

Nach TONOMURA (244) ist die Wirkung der Phosphate auf das Actomyosinsystem äußerst kompliziert und noch keineswegs befriedigend geklärt. Er konnte zeigen, daß Diphosphat die größte Wirkung zeigt, wenn pro Myosinmolekül ein Phosphat-ion gebunden ist. Diese Tatsache spricht für die dissoziierende Wirkung der Phosphate. Nach YASUI (187) kann Myosin zwei Phosphat-Ionen binden und nach ENGELHARDT (51) ist für die ATP- und anorganische Triphosphat-Bindung jeweils dieselbe Stelle im Myosinmolekül verantwortlich. Dies dürfte auch für Diphosphate (135), Polyphosphate (139) und evtl. auch für Monophosphate (106) gelten. Im Widerspruch zur Dissoziationstheorie steht jedoch, daß natürliches Actomyosin ein Mol Diphosphat binden kann, ohne zu dissoziieren (187).

Daß es durch Phosphate und zum Teil auch durch ATP zu einer Molekülvergrößerung aufgrund einer Formveränderung (22, 62) und nicht zur Dissoziation kommt, konnte in etwa widerlegt werden, da das MG abnimmt (244) und auch die Lichtstreuung nach GERGELY (59) - im Gegensatz zu BLUM und MORALES (18) und TONOMURA (191) - geringere Werte annimmt. Nach TONOMURA (244) kommen jedoch durch Phosphatzusatz beide Möglichkeiten (Dissoziation und Molekülverlängerung) aufgrund einer unterschiedlich festen Bindung zwischen Actin und Myosin gleichzeitig vor, da seiner Meinung nach nur die Ergebnisse bei der Ultrazentrifugation für eine Dissoziation sprechen, während Bestimmungen der Lichtstreuung, Strömungsdoppelbrechung und Rotation beide Möglichkeiten offen lassen.

YASUI und Mitarbeiter (269) führten Untersuchungen mit Di-, Tripoly- und Hexaphosphat durch und stellten fest, daß unter bestimmten Bedingungen nur Diphosphat die Größe und Form von Actomyosin verändern kann und daß Tripolyphosphat nur dann wirksam ist, wenn es durch die Actomyosintripolyphosphatase hydrolisiert wird. Hexametaphosphat soll fast keinen

Effekt auf die Dissoziation zeigen. Die Tripolyphosphatase-wirkung von Actomyosin nimmt bei sinkendem pH an Aktivität zu und ist nur bei Anwesenheit von divalenten Kationen und bei hoher Ionenstärke erkennbar. Tripolyphosphat hydrolysiert nach BELL (13) in Ortho- und Diphosphat.

2.3.2. Indirekte Wirkung

2.3.2.1. Wasserbindungsvermögen

Obwohl die beiden Salztypen (Neutralsalze und Salze schwacher Säuren) auf das Muskeleiweiß eine unterschiedliche Wirkung zeigen, ist nach HAMM (88) die Auswirkung auf Wasserbindung und Quellung ähnlich. Beide verwandeln den zerkleinerten Muskel in eine zähe Masse, wobei Faserkonturen und Querstreifung verschwinden. Außerdem kann nach HAMM mit steigenden Phosphatmengen auch die Hydratation verbessert werden und mit zunehmender Konzentration soll die unterschiedliche Wirkung der Salze immer undeutlicher werden. Dies steht in gewissem Widerspruch zu POPP und MUHLBRECHT (200) sowie KOTTER (144), die behaupten, daß durch Phosphate lediglich das Wasserbindungsvermögen des schlachtwarmen Muskels wiederhergestellt werden kann.

Nach HAMM (79) liegt die NaCl-Konzentration, bei welcher die Hydratation ihr Maximum erreicht - unabhängig von der dem zerkleinerten Muskel zugesetzten Wassermenge (0 - 60 %) - bei einer Ionenstärke von 0,8 bis 1,0. Für die wasserbindende Wirkung der einzelnen Na-Salze gibt er folgende Reihenfolge an: Gluconat, Glutaminat, Acetat, Carbonat < Lactat < Tartrat < Fluorid < Monophosphat << Zyklotriphosphat <<< Citrat < Diphosphat < Oxalat < Polyphosphat (Graham) < Tetraphosphat < Triphosphat.

Der Zusatz von Natriumchlorid zu schlachtwarmem Fleisch zeigt einen besonderen Effekt. Obwohl ATP sogar noch rascher abgebaut wird und es nach HAMM (78) auch zur Assoziation von Actin und Myosin kommt, kann das Wasserbindungsvermögen über lange Zeit erhalten bleiben. Offensichtlich entstehen hier

aufgrund der großen Nettoladung keine Querverbindungen, wie sie sonst bei der Reifung eintreten (88).

Die Menge zugesetzten Wassers hat einen entscheidenden Einfluß auf das Wasserbindungsvermögen. Bei Salzanwesenheit steigt mit zunehmender Wasserschüttung auch die Hydratation, während es ohne Salzzusatz sinkt (104, 221). SCHUT (221) erklärt dies damit, daß durch den Verdünnungseffekt bei Salzanwesenheit die fibrillären Proteine besser in Lösung gehen können, während bei Salzabwesenheit nach HAMM (88) die für die Wasserbindung entscheidenden Anionen des Sarkoplasmas verdünnt werden, so daß die Hydratation durch Wasserzusatz im basischen Bereich des I.P. ab- und im sauren Bereich dagegen zunimmt.

Werden Neutralsalze und Phosphate kombiniert angewandt, ist eine Steigerung der Wasserbindung zu beobachten (88, 113, 236). HELLENDORF (113) untersuchte die Wasserbindung verschiedener Phosphate in einer Konzentration von jeweils 0,5 % kombiniert mit 2 % NaCl bei verschiedenen pH-Werten und verglich die Ergebnisse mit der Wasserbindung von NaCl (3 %) allein. Bei pH-Werten unter 5,5 zeigte Diphosphat und Triphosphat einen negativen Einfluß, während bei einem pH-Wert von 6 bis 6,5 die beiden Salze einen spezifischen zusätzlichen Effekt zeigten, wobei das Diphosphat sogar noch besser abschnitt als ATP. Bei hohen Ionenstärken (über 0,45) wurde der Unterschied noch deutlicher, während bei Ionenstärken unter 0,4 mit Phosphat keine Verbesserung der Wasserbindung festgestellt werden konnte. Orthophosphat und Grahamsalz zeigten geringe Effekte, während die Metaphosphate wirkungslos waren. EDTA und Oxalat hatten sogar einen negativen Einfluß.

2.3.2.2. Quellung

Bei einer Lake-Konzentration von 8 - 10 % NaCl wird die günstigste Quellung erreicht (156). Für Phosphat- und Citrat-salze gilt ähnliches ($I = 1,5$) (92). Die Menge des vom Muskel aufgenommenen Wassers hängt auch noch vom pH der Lake

und dem Fleisch/Lake-Verhältnis ab (242). Ein Zusatz von Polyphosphaten zur Pökellake erhöht nach HAMM (88) das Wasserbindungsvermögen des gepökelten Fleisches. Eine optimale Quellwirkung erhält man durch 16-stündige Lagerung des gesalzenen Fleisches bei 0° C (235).

Nach SPECK (226) ist für die Quellung der Zerkleinerungsgrad des Materials von ausschlaggebender Bedeutung. Der auffallende Quelleffekt von Diphosphat bei grober Zerkleinerung des Fleisches deutet auf eine Auflockerung der Muskelstrukturen durch dieses Phosphat hin und nicht auf einen stärkeren Hydratationseffekt, da die Quellungsbegünstigung durch dieses Salz bei feiner Zerkleinerung, wie es den Verhältnissen im Brät entspricht, am niedrigsten ist.

Nach BENDALL (15) ist die verbesserte Hydratation durch Zusatz kondensierter Phosphate infolge der durch Dissoziation erhöhten Löslichkeit bedingt. Dem Citrat kommt nach HELLENDOORN (113) in Gegenwart von NaCl kein spezifischer Effekt zu. Diphosphate zeigen bei alleiniger Anwendung, also ohne NaCl-Kombination, bei gleichem pH und gleicher Ionenstärke geringere Quellungserscheinungen als NaCl, Orthophosphat und Citrat (143). HAMM (92) gibt für die Quellungswirkung der einzelnen Salze dieselbe Reihenfolge wie für das Wasserbindungsvermögen (siehe dort) an.

Gegen die Quellwirkung der Phosphate (bei alleiniger Anwendung) spricht die Untersuchung von RAAB (202), da er mit steigenden Phosphatzusätzen (über 0,5 bzw. 1,0 %) sogar eine abnehmende Quellung erzielen konnte. Jedoch wurden die Versuche mit Gelatine durchgeführt.

Nimmt man an, daß Di- und Polyphosphate die Dissoziation einleiten und auch einen Teil der Querverbindungen zwischen den Eiweißmolekülen spalten, ferner, daß NaCl die Nettoladung der Proteine deutlich erhöht, so läßt sich nach HAMM (38) die verbesserte Hydratation dadurch erklären, daß die Filamente und auch die Myosinmoleküle innerhalb des Filaments aufgrund der elektrostatischen Abstoßung einen größeren Abstand einnehmen können. Daß Phosphate am I.P. keine Wirkung

zeigen (113), läßt sich ebenfalls damit erklären, da trotz Spaltung keine elektrostatische Abstoßung erfolgt (92).

2.3.2.3. Rheologie

"Viskosität" und "Fließgrenze" prägen im wesentlichen den Begriff "Rheologie" (Lehre von der Verformung und dem Fließen der Materie). Die "Fließgrenze" bezeichnet einen Punkt, oberhalb dessen z.B. plastische Massen bei Einwirken von Schubspannung zu fließen beginnen (207).

Durch NaCl-Zusatz zu einem Actomyosin-Gele kommt es zunächst zu einer geringen Viskositätserhöhung. Gibt man jedoch nach Erreichung des "Solzustandes" weiterhin NaCl zu, so kommt es wieder zu einer allmählichen Viskositätsabnahme, die bei einer Ionenstärke von 2,0 ihren tiefsten Punkt erreicht (239). SZENT-GYÖRGYI erklärt diese Viskositätserniedrigung mit der Dissoziation. Bei Zugabe bestimmter Mengen ATP bzw. Phosphate, besonders Diphosphate, kommt es infolge Dissoziation sofort zur Viskositätserniedrigung, die durch weitere Phosphatzugabe kaum noch abnimmt (186, 197, 240, 262).

Die Viskositätserscheinungen im Brät sind schwer zu beurteilen, da es sich um keine homogene Substanz - wie es für Viskositätsuntersuchungen Voraussetzung wäre - handelt, sondern um ein Gemisch verschiedenster Eiweißkörper (262) sowie um eine Suspension, in der grobdisperse Fleischteilchen unterschiedlicher Größe eingelagert sind.

Die nach HAMM eintretende Quellungs- und Hydratationsverbesserung durch Phosphate ist nach KOTTER (144) nicht mit der Viskositätserniedrigung zu erklären, wenngleich sich diese Begriffe nicht ausschließen müssen.

Für die Beschaffenheit eines Brätes sind nach HAMM und REDE (94) die Stärke der Wechselwirkung zwischen den Teilchen des zerkleinerten Fleisches und die Kräfte zwischen den Molekülen der myofibrillären Proteine von Bedeutung, während HAMM und RIESNER (95) die rheologischen Eigenschaften weniger von der Wechselwirkung zwischen den suspendierten Teilchen als

von ihrem Quellungszustand abhängig machten. TOTH und HAMM (246) untersuchten "post rigor Muskel" und stellten fest, daß es durch den ATP-Abbau und der damit verbundenen Assoziation zu Actomyosin trotz Wasserbindungs- und pH-Abnahme zur Viskositätserhöhung kommt. Bei NaCl-Zusatz zu Homogenaten aus schlachtwarmem Rindfleisch sowie aus Rindfleisch im Zustand des Rigor mortis konnten keine deutlichen Veränderungen festgestellt werden, während Brät aus abgehangtem Fleisch mit steigenden NaCl-Zugaben auch steigende Viskositätseigenschaften zeigte. Zunehmende Hydratation und Quellung und die damit verbundene Immobilisierung des Wassers bedingen in diesem Fall nach HAMM die rheologischen Eigenschaften. Nach GORBATOV und KAZAKOV (62) soll jedoch eine Viskositäts-erhöhung mit NaCl erst nach einer Einwirkungszeit von etwa sechs Stunden eintreten.

Der Zusatz von 0,5 % Di- bzw. Tripolyphosphat zu einem Kochsalzbrät (2 % NaCl) aus gelagertem Fleisch führt nach KOTTER (144) infolge Dissoziation zu einem starken Viskositätsabfall. Während Laktat- und Metaphosphatzusätze keine Wirkung zeigten, konnten mit Citrat, Tartrat und Dinatriumphosphat eine geringgradige Erniedrigung und mit Grahamschen und Kurlolschen Salz eine leichte Erhöhung der Viskosität erzielt werden. Mit aus schlachtwarmem Fleisch hergestelltem Brät konnte nur mit Tripolyphosphat eine geringgradige Viskositätserniedrigung erzielt werden. Ferner konnte KOTTER aufzeigen, daß bei steigenden Ionenstärken der Viskositätsunterschied zwischen phosphatfreiem und phosphathaltigem NaCl-Brät größer wird.

Nach HAMM und REDE (94) kann ferner durch Salzen von schlachtwarmem Fleisch die postmortale Assoziation von Myosin und Actin verhindert werden. Insbesondere Quellung, elektrostatische Abstoßung der gelösten Teilchen und Dissoziation können nach HAMM (88) die Viskosität und Fließgrenze beeinflussen. Die rheologische Eigenschaft hängt dann jeweils davon ab, welche der Komponenten überwiegt.

2.3.2.4. Extraktionsfähigkeit und Löslichkeit

Der Extraktionsvorgang wird vor allem durch den Grad der Faserzerstörung, den Zusatz von Elektrolyten und die pH-Verhältnisse beeinflusst (47, 96, 143, 271).

Die meisten in der Praxis als Kutterhilfsmittel verwendeten Phosphatzusätze verbessern die Proteinextraktion. Jedoch konnte KOTTER zwischen Kochsalz, Orthophosphaten, Citraten und Laktaten keine statistisch gesicherte Extraktionswirkung feststellen (4 - 6 % Extraktionsausbeute), während mit Di- und Tripolyphosphaten 28 % Protein extrahiert werden konnte. Nach KOTTER (143, 144) ist dieser Effekt durch die Dissoziation des Actomyosinkomplexes und durch die peptisierende Wirkung der Phosphate bedingt.

Auch HAMM (88) räumt ein, daß neben der Quellungs Zunahme ebenfalls eine partielle Auflösung der myofibrillären Proteine eintreten kann. Jedoch vertritt er die Meinung, daß es nach Salzung und Schüttung bei der im Wurstbrät vorherrschenden Ionenstärke (etwa 0,4) auch bei Phosphatzusatz zu keiner nennenswerten Auflösung und Peptisation kommt, da bei Extraktionsversuchen erst bei höheren Ionenstärken bedeutende Mengen an fibrillärem Eiweiß gewonnen werden und die Ergebnisse aus entsprechenden Versuchen aufgrund des hohen Lösungsmittel/Fleisch-Verhältnisses nur sehr bedingt auf die Praxisbedingungen zu übertragen sind.

Nach SAFFLE und GALBREATH (209) verbessert jegliche pH-Erhöhung die Extrahierbarkeit der myofibrillären Proteine.

VAN EERD und Mitarbeiter (47) konnten während der ersten sieben Stunden p.m. keine Verminderung der Extraktionsausbeute feststellen, obwohl es bereits zur pH-Erniedrigung von 6,0 auf 5,2 kam, während sie nach weiteren 1 1/2 Stunden mit ihrer Methode fast kein fibrilläres Protein mehr extrahieren konnten. Die Ausbeute der wasserlöslichen Proteine wurde nicht beeinflusst.

YASUI (271) betont, daß die Salze in bezug auf die Löslichkeit und Extraktionsfähigkeit analog wirken. Beide sind in

gleicher Weise pH- und salzkonzentrationsabhängig. Er stellte fest, daß die Löslichkeit direkt proportional zum $\text{Na}_2\text{O}/\text{P}_2\text{O}_5$ -Verhältnis ist und daß die Polyphosphatwirkung bei Mg^{++} -Anwesenheit begünstigt wird.

Ohne Phosphat- und ATP-Anwesenheit werden Löslichkeit und Extraktionsfähigkeit durch Kationen (auch Mg-Ionen) in gleicher Weise verschlechtert, während Anionen sie begünstigen (22, 271).

Nach HASSELBACH und Mitarbeiter (107) besitzt Diphosphat in bezug auf die Löslichkeit von Actomyosin bei jeweils gleichen Ionenstärken denselben Effekt wie NaCl.

2.3.2.5. Emulgiereigenschaft

Bei der Brühwurstherstellung ist entscheidend, durch möglichst intensive, aber schonende Zerkleinerung von Fleisch und durch Salzzugabe relativ hohe Mengen fibrillärer Proteine in Lösung zu bringen, denn die Konzentrationshöhe gelöster "Strukturproteine" ist für die Emulgierung von Fett, für die Strukturbildung beim Erhitzen und für die Verhinderung des Wasserabsatzes von Bedeutung (88, 145).

Die Beständigkeit einer Emulsion ("Emulsionsstabilität") hängt von Grad und Art der Dispergierung und von der Viskosität der Emulsion ab. Emulgatoren können dabei nicht nur die Dispergierung bzw. Emulgierung erleichtern, sondern auch den dispersen Zustand aufrechterhalten, indem sie verhindern, daß die ölige Phase wieder zusammenfließt. Dies wird durch die Bildung eines stabilen und hoch viskosen bzw. festen Films, der die "Tröpfchen" überzieht und ein mehr oder weniger mechanisches Hindernis für die Koaleszenz darstellt, erreicht (73). HANSEN (98) und SWIFT (237) konnten die die Fettkügelchen umgebende Protein-Matrix mikroskopisch darstellen. Die Dicke dieser "Filme" ist pH-abhängig und nimmt mit dem Ansteigen des pH-Wertes ab. Hohe Ionenstärken verkürzen die "Spreitungsdauer" oberhalb und unterhalb des I.P. erheblich und heben den bei niedriger Ionenstärke starken pH-Einfluß auf (151). Dieser Effekt ist auch von der Wertigkeit der

Ionen abhängig. Die für den gleichen Effekt molaren Konzentrationen für ein-, zwei- und dreiwertige Ionen betragen 0,04; 0,002 und 0,00003. CUMPER und ALEXANDER (34) fanden mit Zunahme der Ionenstärke eine Dickenabnahme der Filme.

Wenn sich damit gleichzeitig die Grenzflächenspannung erniedrigt, wird die Tendenz der Koaleszenz weiter vermindert und die Emulsion stabilisiert. Die Muskelproteine besitzen diese hier erwähnten Eigenschaften. Sie sind "echte Emulgatoren", die in ihrem Molekül hydrophile und lipophile (hydrophobe) Gruppen enthalten (73). SWIFT (237) konnte zeigen, daß während der Emulgierung bis zu 84 % der ursprünglichen Proteine ihren gelösten Zustand aufgeben und mit der öligen Phase in Beziehung treten.

Einflüsse, die Wasserbindungsvermögen, Quellung und Extraktionsfähigkeit (siehe oben) des Fleisches bzw. der myofibrillären Proteine verbessern, haben ebenfalls einen günstigen Einfluß auf die Brühwurstherstellung (88).

Hier soll aber in erster Linie auf die Emulsionsbereitung mit isolierten Muskelproteinen eingegangen werden.

Kriterien für eine Emulsion sind Emulsionskapazität und -stabilität.

Die Emulsionskapazität (ml Öl/100 mg Protein) nimmt mit zunehmender Proteinkonzentration ab, während die emulgierte Menge pro Volumeneinheit zunimmt (4). Nach TSAI und Mitarbeiter (247) können jedoch ab einer Proteinkonzentration von 1,2 % nur noch geringe Mengen von Öl bzw. Fett zusätzlich aufgenommen werden. Bei einem Vergleich der wasserlöslichen Proteine mit den verschiedenen fibrillären Proteinfractionen konnte in bezug auf die Emulsionskapazität - vor allem bei hohen Konzentrationen - von SWIFT und SULZBACHER kein Unterschied festgestellt werden (238). HEGARTHY und Mitarbeiter (112) fanden für die Emulsionskapazität verschiedener Muskelproteine bei 0,3 M KCl folgende Reihenfolge: Myosin > Actomyosin > Sarkoplasmaproteine > Actin.

SWIFT und SULZBACHER (238) konnten ferner zeigen, daß mit steigendem pH auch die Emulsionskapazität der myofibrillären

Proteine stark zunimmt. Jedoch ist ab pH 6,2 die größte Aufnahmefähigkeit erreicht, die auch durch höhere Salzkonzentrationen (0,3 bis 1,2 m NaCl) nicht mehr wesentlich überschritten werden kann.

Ein Vergleich mit anderen Salzen hat ferner gezeigt, daß die Kapazität vom Gesetz der "Hofmeisterschen Reihe" abhängt, woraus SULZBACHER schließt, daß die Anionen die Fähigkeit besitzen, die Proteinfäden unterschiedlich zu entfalten. Dagegen spricht jedoch, daß die Emulsionskapazität bei den wasserlöslichen Proteinen durch Salzzusatz nur unwesentlich verbessert wird, obwohl nach SWIFT die globulären Proteine günstigere Voraussetzungen für eine Auffaltung hätten (237).

LORENZ (159) konnte zeigen, daß besonders mit Phosphat, aber auch mit NaCl die Grenzflächenspannung deutlich herabgesetzt werden kann. Sie verringert sich mit zunehmendem pH, wobei ab pH 6 mit Phosphat ein deutliches Absinken festzustellen ist. Durch Zugabe von Actomyosin zu den entsprechenden Salzlösungen wird die Grenzflächenspannung nur unwesentlich herabgesetzt. Bei der Oberflächenspannung verhält es sich umgekehrt. So verändern NaCl und Phosphat allein angewandt diese nicht. Sie wird erst erniedrigt, wenn den Salzlösungen Actomyosin zugegeben wird, und zwar nimmt die Oberflächenspannung mit zunehmender Eiweißkonzentration ab. So verbessern vor allem die Phosphate - hauptsächlich durch Herabsetzung der Grenzflächenspannung - die Emulgiereigenschaft, wodurch es zu einer besseren Verteilung der Fett- bzw. Ölkügelchen kommt (3, 58).

Die Phasentrennung gilt als Maß für die Stabilität einer Emulsion. Sie läuft um so schneller ab, je größer der Teilchendurchmesser der suspendierten öligen Phase, je geringer die Viskosität und je niedriger das pH der wässrigen Phase ist (46, 47, 73).

Emulsionszubereitungen mit wasserlöslichen Proteinen zeigen im Gegensatz zum myofibrillären Eiweiß eine deutlich verstärkte Phasentrennung. Durch Salzzusatz verbessert sich die Emulsionsstabilität. Bei fibrillären Proteinen ist sie am größten bei Ionenstärken von 0,7 (4 % NaCl) (46, 247).

2.4. Kolloidchemische Vorgänge und Veränderungen infolge thermischer Behandlung mit und ohne Elektrolytzusatz

2.4.1. Allgemeines

Fast alle löslichen Proteine koagulieren beim Erhitzen. Die Koagulation ist ein häufiges Kennzeichen der "Denaturierung". Die bei der Denaturierung auftretenden Veränderungen, welche indessen nicht in allen Fällen gemeinsam zu beobachten sind, gehen im wesentlichen auf vier Kriterien zurück, nämlich auf eine Abnahme der Löslichkeit, auf Veränderungen in der Gestalt der Moleküle, auf eine Zunahme reaktionsfähiger Gruppen sowie auf eine Abnahme oder den Verlust der biologischen Aktivität (12, 137, 256).

Der hohe Temperaturkoeffizient der Denaturierung hat früher zu der Annahme geführt, daß es sich um einen "Alles- oder Nichts"-Vorgang handelt, bei dem es also keine Zwischenstufen zwischen nativem und vollständig denaturiertem Protein gibt. Da aber alle Eigenschaften nicht zur gleichen Zeit verlorengehen, konnte diese Hypothese nicht aufrechterhalten werden (110). TSIPEROVICH (251) hatte außerdem festgestellt, daß sich nie sämtliche Proteine einer Lösung gleichzeitig in bezug auf eine Eigenschaft ändern. Ferner konnte er bei keinem seiner Versuche die gesamte Menge an Eiweiß denaturieren. Nach seiner Meinung macht die Denaturierung einen gewissen Teil des Eiweißes gegen weitere Denaturierung resistent.

Die Denaturierung ist ein energieverbrauchender, also endothermer Vorgang, der außer durch Hitzeeinwirkung auch durch mechanische Kräfte (Einfrieren, Schallwellen, Oberflächenkräfte, Mahlen, Druck), energiereiche Strahlung und chemische Agentien eingeleitet wird (110). Auch anorganische Anionen können je nach ihrer Stellung in der Hofmeisterschen Reihe eine denaturierende oder denaturierungshemmende Wirkung aufweisen (256). Die Schädigung kann so geringfügig sein, daß sie mit den zur Verfügung stehenden Mitteln oft nicht zu objektivieren ist. Im Falle des Muskeleiweißes beginnt nach GRAU (68) die Proteinschädigung im Augenblick des Todes.

Jedoch spricht man erst von Denaturierung, wenn die Proteineigenschaften wesentlich von denen des im frisch geschlachteten Tier vorhandenen Eiweißes abweichen.

Es ist bekannt, daß die Denaturierung verzögert bzw. teilweise gehemmt werden kann. Außer bestimmter Salze und der ATP, worauf noch eingegangen wird, können auch Zucker, fettsaure Salze, gewisse Farbstoffe und hohe Drucke einen schützenden Effekt ausüben (68). Auch die Proteinkonzentration hat einen Einfluß. So sind besonders getrocknete, aber auch hochkonzentrierte Proteine wesentlich hitzeresistenter als weniger konzentrierte (51, 110).

2.4.2. Intra- und intermolekulare Strukturveränderungen

Nach SHERAGA (215) geht das Protein bei der Denaturierung von einem "geordneten in einen weniger geordneten Zustand" über, wobei die räumliche Struktur (Sekundär- Tertiärstruktur) - bedingt durch die Wechselwirkungen der einzelnen Aminosäuren und deren funktionellen Gruppen - ganz oder teilweise verlorengelht (siehe auch 2.2.2.). Dabei werden die Nebenvalenzen, besonders Wasserstoff- und Salzbrücken, und bei stärkeren thermischen Einflüssen auch die Hauptvalenzen gelöst. Das Molekül kann sich entfalten, und zwischen den Ketten bilden sich rein zufällig neue Valenzen aus. Die entfalteten Polypeptidketten verschiedener Eiweißmoleküle können sich aneinanderlegen, miteinander verknäueln und aggregieren. Das Protein kann dabei seine biologischen Eigenschaften und seine Löslichkeit ganz oder teilweise verlieren. Diese Veränderungen können nach außen hin sichtbar werden (Ausflockung, Muskelschrumpfung), und man spricht dann von "Koagulation" (137, 170).

Auffaltung und Koagulation müssen jedoch nicht immer Hand in Hand gehen. So sind im Bereich des I.P. aufgrund der fehlenden intermolekularen elektrostatischen Abstoßung "Aggregation" und Koagulation zwar begünstigt, die Auffaltung jedoch soll infolge der fehlenden intramolekularen Abstoßung der einzelnen Windungen gehemmt werden (131).

Die Proteine werden bei der Denaturierung im allgemeinen reaktionsfreudiger, da gewisse maskierte, unzugängliche Gruppen des nativen Proteins durch Entfaltung der Peptidkette den entsprechenden Reagentien zugänglicher werden. So kommt es z.B. zu intensiveren Nachweisreaktionen für Sulfhydryl-, Disulfid- und Phenolgruppen sowie auch für die Seitenketten des Arginins. Denaturierte Proteine zeigen Biuretreaktion und können auch leichter von proteolytischen Fermenten angegriffen werden, da die Peptidbindungen, an denen sich die hydrolytische Spaltung vollzieht, für das relativ sperrige Enzym zugänglicher werden (110).

Bei lang dauernder Hitzeeinwirkung oder bei Anwendung hoher Temperaturen kann auch ein Zerbrechen der Peptidketten erfolgen, jedoch wird dieser Vorgang im allgemeinen nicht mehr in den Begriff der Denaturierung einbezogen (68, 117, 137). HOFMANN (117) konnte zeigen, daß die mit N-äthylmaleinimid (NEM) bestimmbaren SH-Gruppen jeweils als "Gradmesser" der Auffaltung gelten können. Mit Hilfe dieser Bestimmung wird nur die physikalische Veränderung eines Proteinfadens erfaßt. So steigt die Zahl der leicht zugänglichen SH-Gruppen bei Muskelgewebe, Myofibrillen und Actomyosinlösungen bis 70° C mit zunehmender Temperatur, während über 70° keine weiteren SH-Gruppen mehr zugänglich werden, obwohl erst zwei Drittel der gesamten SH-Gruppen mit dieser Methode erfaßt werden. Nach HAMM und HOFMANN (119) erleidet demnach das Muskelweiß beim Erwärmen eine fortschreitende Auffaltung, die bei 70° C beendet sein soll. Weshalb es bei höheren Temperaturen zu keiner Zunahme der bestimmbaren SH-Gruppen mehr kommt, könnte nach HOFMANN (117) darin liegen, daß sich die Peptidketten nicht mehr vollständig auffalten.

Auch FASOLD und TURBA (55) sind durch Berechnung der Entropiezunahme bei der Denaturierung zu dem Schluß gekommen, daß eine vollständige Auffaltung nicht eintritt. Da jedoch ab 70° C die Gesamtzahl der freien SH-Gruppen viel stärker abnimmt als die Zahl der leicht zugänglichen und erst bei 120° C die mit beiden Methoden bestimmte Anzahl an SH-Gruppen gleich ist (117), dürfte die Auffaltung der fibrillären Muskelpro-

teine über 70°C hinaus weiter fortschreiten und erst bei 120°C vollendet sein.

Die im Anschluß an die Auffaltung entstehenden intermolekularen Querverbindungen besitzen eine unterschiedliche Stabilität. So zeigt auf 40°C erhitztes Muskeleiweiß nur im Bereich des I.P. (pH 4,5 - 7) ein verändertes Wasserbindungsvermögen. Die entstehenden Querverbindungen können offensichtlich durch Säure bzw. Lauge wieder gespalten werden. Bei höheren Temperaturen jedoch sind die entstehenden intermolekularen Verbindungen irreversibel. Nur im Bereich von $40 - 45^{\circ}\text{C}$ können sie durch Säuren noch zum Teil gespalten werden (85). Da bis 70°C die Zahl der freien SH-Gruppen nicht abnimmt, dürften neu entstehende Disulfidbrücken nicht die Rolle spielen. Auch Salzbrücken sind nach HAMM (86) nicht beteiligt. Er vermutet vielmehr die Entstehung neuer H-Brücken sowie zusätzlicher Nebenvalenzen zwischen unpolaren Seitenketten, ferner einen Disulfid-Sulphydryl-Austausch, d.h. die Möglichkeit, daß Disulfidbrücken vereinzelt aufbrechen und sich mit anderen freien SH-Gruppen wieder neu formieren können.

2.4.3. Veränderung der funktionellen Gruppen

Ab 70°C kommt es in zunehmendem Maße zur Bildung neuer, stabiler Disulfidbrücken, die die Hydratation des Muskeleiweißes weiter herabsetzen können, da die Gesamtzahl der freien SH-Gruppen (mit AgNO_3 bestimmt) erst ab 70°C mit steigender Erhitzung abnimmt. Inwieweit die Abnahme der freien SH-Gruppen bei höheren Temperaturen auch infolge einer eintretenden H_2S -Bildung bedingt ist, wurde von HOFMANN (117, 119) untersucht. Er stellte fest, daß die H_2S -Bildung ab 70°C mit zunehmender Temperatur zwar exponentiell zunimmt und daß sie fast ausschließlich durch die freien SH- und nicht Disulfidgruppen verursacht wird, aber daß dennoch nur 2 - 3 % der SH-Abnahme jeweils der Bildung von H_2S zuzuschreiben sind.

Die Zahl der bestimmbar sauren Aminosäurereste (besonders Glutamin- und Asparaginsäure, aber auch Tyrosin und Cystein) nimmt mit steigenden Temperaturen (besonders ab 70°C) ständig ab. Bei 120°C sind nur noch annähernd die Hälfte der ursprünglichen sauren Gruppen nachzuweisen. Bei den basischen Gruppen (Arginin-, Lysin-, Histidinreste) tritt erst im Temperaturbereich von $70 - 120^{\circ}\text{C}$ eine signifikante Abnahme ein (117).

Wie bereits erwähnt, ist die Kationenbindung im rohen Muskel bei pH 7 wesentlich höher als bei pH 5,5. Dieser starke pH-Einfluß ist auch nach dem Erhitzen innerhalb des Temperaturbereiches von $20 - 120^{\circ}\text{C}$ noch gegeben. Mit zunehmenden Temperaturen kommt es auch zur steigenden Kationenabgabe, besonders von Ca^{++} . Da die Abnahme der sauren Gruppen mit der Kationenfreigabe durch die Myofibrillen in etwa parallel verläuft, setzten HAMM (80, 86) und HOFMANN (117) beide Vorgänge miteinander in Beziehung. Die Freisetzung von anorganischem Phosphat aus gebundener Form beginnt erst bei 90°C und nimmt dann mit steigender Temperatur zu. Nach HAMM (81) dürfte aber der größte Teil dieser Phosphate von wasserlöslichen Substanzen stammen.

Die Tatsache, daß es auch zwischen 80 und 110°C zu einer Abgabe gebundener Erdalkalitionen und zur Abnahme von bestimmbar sauren und basischen Gruppen kommt, ist nach HAMM ein Beweis dafür, daß auch in diesem Temperaturbereich noch Eiweißveränderungen stattfinden (88). Nach GRAU ist sogar bis 150°C noch eine merkbare Denaturierung festzustellen (67).

Auch SHERMAN (223) untersuchte die Ionenabgabe der Muskelproteine beim Erhitzen und kam zu dem Ergebnis, daß die Anionen fester an das Eiweiß gebunden sind und somit auch schwerer abdissoziieren.

Ferner kommt es bei der Erhitzung von Muskeleiweiß zu einer pH-Erhöhung von ca. 0,4 Einheiten (86, 88, 117, 177). Die Abnahme der H^{+} -Konzentration ist um so geringer, je höher der pH-Wert des Ausgangsmaterials ist. Auch bei Phosphat- (177) und NaCl-Zusatz (93) macht sich der Einfluß der Hitze-koagulation in gleicher Weise bemerkbar.

Stellt man jedoch das pH auf Werte > 7 oder $< 4,5$ ein, so kommt es beim Erhitzen zu einer pH-Abnahme (90, 213).

Mit steigender Erhitzungstemperatur verschiebt sich das Minimum der Wasserbindung und damit der I.P. des fibrillären Eiweißes zu höheren pH-Werten (7, 86, 88). Dies wurde auch bei anderen Proteinen festgestellt (110, 222).

Der günstige Einfluß der pH-Erhöhung auf das Wasserbindungsvermögen kommt somit durch die Verschiebung des I.P. nicht zur Geltung.

Ob es durch eine Verminderung der negativen oder durch eine Vermehrung der positiven Gruppen zur Herabsetzung der negativen Nettoladung kommt, ist nicht geklärt und wird in der Literatur unterschiedlich beurteilt (30, 86, 88, 110, 117, 152, 222).

Nach HOFMANN (117) liegt der Grund, weshalb bei der thermischen Behandlung zunehmend weniger Carboxylgruppen bestimmt werden können, nicht in einer "Zerstörung" der entsprechenden Aminosäure und nicht in der Oxidierung und Abspaltung von SH-Gruppen, da diese bis 70°C unverändert bleiben. Auch die Bildung von Peptidbindungen kann nicht in Frage kommen, da die Anzahl der basischen Gruppen nicht verändert wird. Er zieht evtl. eine Wasserstoffbrückenbildung zwischen den Carboxylat- und den Hydroxylgruppen von Serin und Threonin in Betracht, wodurch es zu einer "Blockade" der sauren Gruppen kommen könnte. Für eine Abnahme der Carboxylgruppen hingegen würde die pH-Erhöhung des Gewebes und die Kationenfreisetzung sprechen. Dennoch sind aber nach HOFMANN auch nicht näher definierte Denaturierungseffekte möglich, die das Bindungsvermögen des für die Bestimmung benützten Farbstoffes Safranin herabsetzen. Bei Temperaturen über 70°C kommt es jedoch mit Sicherheit zu chemischen Reaktionen zwischen den einzelnen funktionellen Gruppen; die Verbindungen sind jedoch durch Säurehydrolyse wieder spaltbar, da der Gehalt an sauren Aminosäuren selbst bei auf 120°C erhitzten Proben nicht reduziert wird. Evtl. kommt es bei diesen Temperaturen zur Bildung von Peptid-, Ester- und Thioesterbindungen. In-

wieweit und in welchem Ausmaß es bei Temperaturen um und über 100°C im Muskel auch zu "Bräunungs"- bzw. Maillardreaktionen kommen kann, ist nach HOFMANN (117) noch nicht geklärt. Da es bei isolierten Actomyosinogenen im allgemeinen zu keiner Abnahme der basischen Gruppen kommt, kann man möglicherweise annehmen, daß dies auf die Abwesenheit von Kohlenhydraten zurückzuführen ist (117).

Die erste Stufe der Wärmedenaturierung besteht im Aufbrechen von Wasserstoffbrücken, wodurch zusätzliche positive Ladungen am Eiweißmolekül entstehen und die Nettoladung sich dadurch verringert (23, 155, 222). Auch nach HAMM (85) kommt es bei der Hitze-koagulation zur Zunahme der positiven Ladungen. Er stellte fest, daß durch Erhitzen auf 70°C 10 - 15 Mol Imidazolgruppen je 10^5 g Protein freigesetzt werden. Dieser heterozyklische 5-er-Ring mit zwei Imminogruppen entspricht dem Aminosäurerest des Histidins. Auf diese Weise läßt sich nach HAMM auch die pH-Erhöhung und die Erniedrigung der Nettoladung erklären. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch CONELL und HOWGATE (30).

2.4.4. Verminderung bzw. Verlust von Löslichkeit, Extraktionsfähigkeit und Veränderung von Viskosität

Über den Temperaturzeitpunkt des Löslichkeitsverlustes und der Koagulation der einzelnen Fraktionen myofibrillärer Proteine ist in der Literatur wenig zu finden. Allgemein gilt, daß Proteine mit geringerer Nettoladung hitzeempfindlicher sind (148).

Die Löslichkeit von Actin soll am Neutralpunkt bei 50°C verlorengehen, während bei pH 2 und 10 bereits ohne Hitzeeinwirkung das Eiweiß inaktiviert wird (197).

Myosin gilt als eines der hitzeempfindlichsten Proteine überhaupt. Die ATP-ase-Aktivität geht bereits bei 37°C verloren. Bei 40°C und zum Teil darunter soll es bereits denaturieren (51). Nach GREENSTEIN und EDSALL (72) beginnt die Denaturierung schon bei 35°C . Nach anderen Angaben soll

Myosin zwischen 38 und 45° C koagulieren (239, 45). LOCKER (157) gibt dafür 53° C an. Ferner stellte er fest, daß zunehmende Proteinkonzentration sowie pH-Erniedrigung die Denaturierung begünstigen sollen. Jedoch ist von völlig trockenen Proteinen bekannt, daß sie äußerst hitzeresistent sind, da der Denaturierungsvorgang an das Vorhandensein von Wasser gebunden sein dürfte (68).

Mit erhitzten Proteinlösungen konnte Locker (157) im nicht denaturierten Überstand, der bei 53° C noch 8 - 18 % betrug, verschiedene Fraktionen - myosinähnliche und solche mit niedrigem MG - feststellen. Wenn Myosin in den Fibrillen an Actin gebunden ist, soll es gegen Hitzedenaturierung widerstandsfähiger sein (270).

Die Hitzeresistenz der kontraktilen Proteine nimmt im Muskel in der Reihenfolge Actin, Actomyosin, Myosin ab (134).

Nach HAMM soll die Koagulation der myofibrillären Proteine bei 30 - 40° C beginnen und bei 55° C fast vollendet sein (86). Er versuchte, dies durch Messung der Kompressibilität und Rigidität von erhitztem Gewebe zu objektivieren (90).

Löslichkeit und Koagulation gehen Hand in Hand. Der größte Teil der myofibrillären Proteine verliert zwischen 40 und 60° C seine Löslichkeit (88).

Myosin soll bei hohen Salzkonzentrationen nicht zu denaturieren sein (145); ferner dürfte die Hitzekoagulation durch ATP (51) und Polyphosphate (49) verzögert werden. Auch von anderen Proteinen ist bekannt, daß Phosphate der Denaturierung entgegenwirken. So verhindert Phosphatzusatz zum Eiklar die Gerinnung bei der Pasteurisierung (169).

Durch Löslichkeitsverminderung und Koagulationseintritt wird die Extraktionsfähigkeit der myofibrillären Proteine stark beeinflusst. Ab 35° C beginnt bei gelagertem Fleisch ein deutlicher Abfall der Extraktionsausbeute (sowohl mit NaCl als auch mit Phosphat). Bei schlachtwarmem Fleisch setzt aufgrund des schützenden Effektes der ATP die Verminderung erst bei 40 - 45° C ein. Dabei ist ein de- bzw. renaturierender Effekt bei Phosphatanwesenheit nicht zu erkennen (232).

Nach ACTON (2) verringert sich die Extraktionsausbeute ebenfalls erst bei Temperaturen über 35°C und nimmt bis 62°C kontinuierlich ab. Die Viskosität salzlöslicher Muskelextrakte nimmt bis 75°C ständig zu. Erst bei höheren Temperaturen kommt es dann zur Abnahme der rheologischen Eigenschaft. Die beim Erhitzen von fibrillären Proteinlösungen eintretende Viskositäts-erhöhung ist durch Auffaltung, Aggregation und intermolekulare Brückenbildung bedingt (196).

2.4.5. Schrumpfung und Safthaltevermögen

Saftaustritt und Schrumpfung sind eine Folge der Hitzedenaturierung und -koagulation (88) der nicht wasserlöslichen Muskelproteine.

Es gibt verschiedene Erhitzungsverfahren, solche mittels trockener Hitze, wie Braten, Grillen und Backen, und solche mittels feuchter Hitze wie Schmoren, Dämpfen, Garziehen und Garkochen (243), die sich jeweils unterschiedlich auf Saftabgabe auswirken. So tritt der geringste Gewichtsverlust im allgemeinen beim Rösten, d.h. Grillen, ein, der höchste beim Kochen, wobei sich im letzteren Fall noch das Fleisch/Wasser-Verhältnis ungünstig auswirken kann (67).

Für die Größenordnung des Saftverlustes soll die Innentemperatur, welche das Fleisch bei der Zubereitung erreicht, wichtiger sein als das Zubereitungsverfahren (27).

Einflüsse, die im rohen Zustand die Saftabgabe ("weep" oder "drip") begünstigen, tun dies in gleicher Weise auch beim Erhitzen (90). Der bei der Schrumpfung abgegebene Fleischsaft enthält teilweise durch die Erhitzung flüssig gewordenes Fett. Der Saftverlust ist außer vom Reifungsgrad (ATP-Gehalt, Strukturveränderung durch pH-Abfall) noch von einer Reihe von Faktoren abhängig (208).

So steht das Gewicht des Fleischstückes im umgekehrten Verhältnis zum Gewichtsverlust. Je weniger Fasern querschnitts werden, je niedriger der Grad der Autolyse des gereiften Fleisches ist und je schneller die gewünschte Kerntemperatur er-

reicht wird, um so niedriger ist der Saftverlust (145).

Mit steigendem pH verbessert sich auch das Safthaltevermögen, wobei der pH-Einfluß bei auf 90° C erhitztem Fleisch stärker zur Wirkung kommt als dies bei 70° C der Fall ist (20).

Der Saftverlust steigt mit zunehmender Temperatur (2, 142, 266), besonders aber im Bereich zwischen 40 und 50° C, jedoch nicht zwischen 50 und 55° C (266).

Wird der Muskel nicht vom Knochen gelöst, so können beim Erhitzen Schrumpfung und Saftabgabe vermindert werden (87).

Durch Salzzugabe wird der Saftverlust beim Erhitzen reduziert. UNGER (253) bestimmte Kochverluste bei Temperaturen von $90 - 120^{\circ}$ C mit (2,5 %) und ohne Kochsalz und kam zu folgendem Ergebnis: Bei einer Erhitzungszeit von 45 Minuten nahmen die Kochverluste besonders bei NaCl-behandeltem Fleisch bis 110° C zu, so daß auch bei 110° C die Salzwirkung am geringsten war. Bei einer Erhitzungsdauer von 90 Minuten jedoch war eine Zunahme des Saftverlustes nur noch von 90 auf 100° C - und zwar bei salzfreiem Fleisch - festzustellen. Ab 110° C konnte sich durch längeres Erhitzen kein zusätzlicher Fleischsaft mehr absetzen.

WASILEWSKI und Mitarbeiter (257) konnten bei Erhitzungsversuchen mit Muskelwürfeln ferner feststellen, daß durch Salzerhöhung (NaCl) Exudatmenge, Schrumpfung und Verkürzung günstig zu beeinflussen sind, während die ausgetretene Menge an Eiweiß und "Nichtprotein-N" nicht reduziert werden konnten. Daß sich der Saftverlust und die Schrumpfung durch Diphosphatzusatz zu Kochsalz noch zusätzlich verringern, konnten KÖRMENDY und Mitarbeiter (142) nachweisen. Bei höheren Temperaturen waren die Unterschiede deutlicher. Sie konnten ferner zeigen, daß je höher die Erhitzungstemperatur ist, um so früher der Zeitpunkt erreicht wird, bei dem praktisch kein zusätzlicher Saftverlust mehr eintritt.

2.4.6. Histologische Veränderungen

Elektronen- und Phasenkontrastmikroskop zeigen, daß beim Erhitzen auf 50°C die myofibrillären Proteine bereits verdichtet und die Sarkomeren verkürzt sind. Bei 60°C kommt es zu einem Verlust der Struktur der M-Linie. Die A-Bande behält im allgemeinen ihre strukturelle Beschaffenheit bei, wird aber durch Koagulation dichter. Zwischen 70 und 80°C löst sich die I-Bande auf, verschwindet schließlich ganz, und es erscheinen im elektronenmikroskopischen Bild Risse und leere Räume. Nur die Z-Linie ist noch als elektronenoptisch dichter, geschlängelter und fragmentierter Strang zu erkennen. Die Verdichtung der A-Bande nimmt in diesem Temperaturbereich weiter zu. Bei 90°C und höher entstehen amorphe Strukturen, die die Querstreifung jedoch noch gut erkennen lassen (61, 161, 216).

Im Gegensatz dazu kommt es bei der Erhitzung von Muskelgewebe im Zustand des "Praerigors" zu anderen ultramikroskopischen Veränderungen. I- und A-Bande werden mit zunehmender Erhitzung kürzer. Der Endzustand ist ein mehr oder weniger homogenes Bild, in dem M- und Z-Linie nicht mehr und I- und A-Bande nur noch schwer zu erkennen sind. Die I-Bande koagulierte zusammenhängend. Es entsteht keine Hohlraumbildung (161).

BOULTON und Mitarbeiter (19) konnten beobachten, daß es besonders bei Muskeln mit langen Sarkomeren zu einer intensiveren Faserverkürzung beim Erhitzen kommt.

Durch mikroskopische Untersuchungen konnten HOSTETLER und LANDMANN (120) zeigen, daß Durchmesser und Länge der Faser bei den einzelnen Temperaturen unterschiedlich schrumpfen. So setzt die Faser- bzw. Sarkomerenverkürzung erst bei etwa 55°C ein und nimmt mit steigenden Temperaturen, besonders aber zwischen 55 und 65°C , ständig zu. Die Durchmesserabnahme der Faser hingegen vollzieht sich innerhalb von $40 - 60^{\circ}\text{C}$ kontinuierlich. Durch weitere Temperaturerhöhung konnte keine weitere Abnahme des Faserdurchmessers erzielt werden. Zwischen 61 und 77°C stellten sie sogar eine geringgradige Zunahme fest. So haben aufgrund dieser Versuche Länge

und Durchmesser der Faser bei 65° C um etwa 22 % abgenommen. Bis 80° C verkürzt sich die Faser um weitere 10 %, während der Durchmesser konstant bleibt.

Polyphosphate vermindern die bei Temperaturen über 50° C eintretende Faserverkürzung (252).

2.4.7. Wasserbindungsvermögen und Quellung

Mit zunehmender Temperaturerhöhung sinkt das Wasserbindungsvermögen. Dabei spielen sowohl die mikroskopische Struktur als auch der chemische Status der Muskelproteine eine Rolle (152). Der pH-Einfluß auf das Wasserbindungsvermögen macht sich auch beim Erhitzen bemerkbar. Im Bereich des I.P. ist bei allen Temperaturen die Hydratation am geringsten und steigt bei höheren und niedrigeren pH-Werten nach beiden Seiten hin an. Auf der sauren Seite sind die Unterschiede bei den einzelnen Temperaturen geringer, während sie auf der basischen Seite größer werden. Der Grund hierfür liegt in der Verschiebung des I.P. zu einem höheren pH-Bereich.

HAMM und DEATHERAGE (90) machten dies noch auf andere Weise deutlich. Sie stellten die auf verschiedene Temperaturen erhitzten Muskelhomogenate anschließend auf die verschiedenen pH-Werte ein und bestimmten jeweils das pH des Wasserbindungsminimums. Bei unbehandelten Homogenaten lag es bei 5,2, durch Erhitzen stieg es an und erreichte bei den ab 80° C erhitzten Proben den Wert 6,2.

Die Abnahme des Wasserbindungsvermögens verläuft mit steigenden Temperaturen nicht kontinuierlich. Im Temperaturbereich von 50 - 55° C sind die zur Wasserbindungsabnahme führenden Eiweißveränderungen verzögert oder gar gestoppt. Dies gilt in gleicher Weise auch für die Quellungsabnahme, die Zunahme des pH-Wertes im Fleisch, die Abnahme der bestimmbaren freien sauren Gruppen und die Freisetzung proteingebundener Mg- und Ca-Ionen. HAMM (88) spricht von einer "Umorientierung" der myofibrillären Proteine in diesem Bereich, in dem der Denaturierungsvorgang fast abgeschlossen ist, während

die Verdichtung der Muskelfaser erst einsetzt.

Der Wasserbindungsverlust tritt infolge der Abgabe des immobilisierten Wassers durch Verdichtung der myofibrillären Proteine ein. Das Hydratwasser wird davon nicht betroffen (88).

Ab 90° C steigt das Wasserbindungsvermögen wieder leicht an. Der Grund liegt nach HAMM (80) in einer Umwandlung des Bindegewebskollagens in Gelatine.

Das durch Salzzusatz verbesserte Wasserbindungsvermögen bleibt auch nach dem Erhitzen zum Teil noch bestehen (15). Ein Vergleich von NaCl-freiem und NaCl-haltigem (2 %) zerkleinerten Rindermuskel zeigt, daß mit zunehmender Temperatur die positive Wirkung des Salzes auf das Wasserbindungsvermögen aufgehoben wird (93). Dies trifft besonders bei niedrigen pH-Werten zu (91).

Bis 40° C tritt nur bei NaCl-freiem Homogenat eine geringgradige Verschlechterung des Wasserbindungsvermögens ein. Im Bereich von 40 - 70° C kommt es zu einer starken Abnahme, die bei den salzbehandelten Proben deutlicher ausfällt. Zwischen 40 und 45° C ist in beiden Fällen eine signifikante Verzögerung festzustellen. Zwischen 70 und 90° C kommt es zu keiner weiteren Abnahme des Wasserbindungsvermögens.

Die Wirkung verschiedener Mengen an Phosphaten (0,25 - 1,0 %) mit und ohne Zusatz von Salz (0,5 - 1,0 % NaCl) auf das Wasserbindungsvermögen bei 60, 65 und 70° C wurde von SHULTS, RUSSEL und WIERBICKI (225) untersucht. Bei Phosphatzusatz ohne Kochsalz wurde das Wasserbindungsvermögen nur unwesentlich verbessert. Ein Zusatz von Salz zu den Phosphaten steigert jedoch besonders bei Di- und Tripolyphosphaten das Wasserbindungsvermögen.

HELLENDORF (113) konnte durch Phosphatzusatz erst mit 2 %iger NaCl-Grundlage einen deutlichen "Phosphateffekt" erzielen.

SHERMAN (224) verglich die alleinige Diphosphatwirkung mit der von Kochsalz und konnte zeigen, daß Phosphat besonders bei hoher Ionenstärke dem NaCl überlegen ist.

Das Quellungsvermögen des Fleisches soll von 0°C an mit steigenden Temperaturen abnehmen (129). WIERBICKI und BURELL (264) zeigten jedoch, daß das größte Quellvermögen bei $25 - 30^{\circ}\text{C}$ vorherrscht. Schweinefleisch zeigt dabei eine bedeutend stärkere Quellung als Rindfleisch.

2.4.8. Emulsionsstabilität

Alle Faktoren, die das Wasserbindungsvermögen des Fleisches, die Löslichkeit und Extraktionsfähigkeit der myofibrillären Proteine verbessern, begünstigen in gleicher Weise auch die Stabilität eines Brühwurstbrätes beim Erhitzen (88).

Entscheidend dabei ist, daß genügend gelöste Muskelproteine im Brühwurstbrät vorliegen, um das beim Kuttersn fein verteilte Fett zu emulgieren, zu stabilisieren und um ein zusammenhängendes Eiweißgerüst beim Erhitzen entstehen zu lassen, das die grobdispersen Partikel miteinander verbindet und in dessen Maschenwerk fleischeigenes und beim Kuttersn zugesetztes Wasser immobilisiert (145).

Es ist bekannt, daß innerhalb bestimmter Grenzen durch Wasser- bzw. Fettzugaben die Emulsionsstabilität verbessert werden kann (144, 88).

Die Temperatur des Brätes beim Kuttersvorgang ist für die Fettverteilung und Emulsionsstabilität von großer Wichtigkeit. Bei hohen Wärmegraden soll es nach SWIFT und Mitarbeiter (237) zur Viskositätserniedrigung, Abnahme der Oberflächenspannung von Fett und feineren Dispergierung, die einen zunehmenden Proteinbedarf zur Folge hat, kommen. Die Emulsionskapazität wird erniedrigt, und bei weiterer Fettzugabe kommt es zum "Zusammenbrechen" der Emulsion.

CARPENTER und SAFFLE (25) konnten dies bestätigen. Ferner führen sie an, daß es bei einer Emulsionsbereitung durch Öl anstatt Fett aufgrund der höheren Temperatur bereits zu einem Zusammenfließen der Öltröpfchen kommt, ehe die Kapazität erschöpft ist.

Im mikroskopischen Bild zeigt jedoch eine unter diesen Bedingungen gekutterte Brühwurst nach der Gerüstbildung durch Erhitzung bzw. Räuchern eine beträchtliche Größenzunahme der Fetttröpfchen, auch wenn die Emulsionskapazität nicht ausgeschöpft wurde. Die Proteinmatrix ist teilweise unterbrochen. Liegen die Kuttertemperaturen über $26,5^{\circ}\text{C}$, so kommt es zu einem teilweisen Zusammenfließen der mangelhaft emulgierten Fette, da die Matrix und das Proteingerüst der Belastung durch Hitze nicht standhalten (114).

Versuche mit den einzelnen fibrillären Proteinfractionen in bezug auf ihre Gerüstbildung beim Erhitzen zeigten, daß Actin dazu - im Gegensatz zu Myosin und Actomyosin - nicht befähigt ist. Bei einer Ionenstärke von 0,6 KCl soll Myosin bei der Hitzeoagulation geringfügig bessere Gerüstbildungseigenschaften aufweisen als Actomyosin. Bei Zusatz von actinfreien unlöslichen Stromaproteinen ist die Reihenfolge in der Wirkung aber umgekehrt (210).

Nach TSAI und Mitarbeiter (247) besitzt jedoch Actin eine geringgradige emulsionsstabilisierende Wirkung beim Erhitzen. Emulsionen - bereitet aus 0,8 und 1 %-igen Actinlösungen - zeigten beim Erhitzen einen Schwund von 20 %. Tropomyosin wies keine stabilisierende Wirkung auf, sondern verschlechterte sogar die des Actins. Beide Emulsionen trennten sich beim Erhitzen, während eine "Myosinemulsion" sogar noch eine geringfügige Wasseraufnahme zeigte. Bei der mikroskopischen Betrachtung fand man bei der "Actinemulsion" große Öltröpfchen von unterschiedlichem Durchmesser, während die Emulsion mit Myosin eine feine, regelmäßige Dispersion darstellte.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. SH-Gruppenbestimmung mit N-äthylmaleinimid (NEM)

3.1.1. Problemstellung

Die Denaturierung ist mit einem Verlust der ursprünglichen Eigenschaften des Eiweißes verbunden. Die geordnete "Makrostruktur" des nativen Eiweißes geht durch Veränderungen und teilweiser bzw. vollständiger Zerstörung intramolekularer Wechselwirkungen, die der Polypeptidkette ihre charakteristische, räumliche Konfiguration verleihen, in einen ungeordneten Zustand über. Die Folge dieser Entfaltung des Proteinmoleküls ist eine Erhöhung der Reaktionsbereitschaft verschiedenster chemischer Gruppen und eine Voraussetzung für das Zustandekommen intermolekularer Bindungen (137, 256).

Da Salze, insbesondere Phosphate, die Hitzeaggregation von Muskeleiweiß hemmen bzw. verzögern sollen (49, 51, 145), ist zu prüfen, ob durch Elektrolytzusatz die Auffaltung der Polypeptidketten beim Erhitzen beeinflusst werden kann. Zur Bestimmung des Entfaltungsgrades kann die Freilegung von Sulfhydrylgruppen beim Denaturierungsvorgang herangezogen werden. Von den in der Literatur erwähnten Methoden (8, 117, 174, 256) wurde die SH-Gruppenbestimmung mit NEM nach HOFMANN (117) angewandt. Sie soll besonders bei myofibrillären Proteinen geeignet sein und die physikalische Veränderung beim Erhitzen bis 70° C aufzeigen (117).

3.1.2. Versuchsanordnung

Die Versuche wurden mit Actomyosin, das nach der Methode von SZENT-GYÖRGYI (240) dargestellt wurde, durchgeführt. Um eine größere Extraktionsausbeute zu erzielen, wurde schlachtwarmes Rindfleisch verwendet, das nach Entfernung von Faszien und Sehnen im vorgekühlten Wolf (2 mm-Scheibe) zweimal zerkleinert und anschließend mit der 5-fachen Menge an Weber-Edsall-Lösung (0,6 mol KCl; 0,04 mol NaHCO₃; 0,01 mol Na₂CO₃) versetzt wurde.

Nach einer 24-stündigen Extraktionszeit bei $+ 2^{\circ} \text{C}$ wurde zur Abtrennung der ungelösten Gewebsteile das Volumen des hochviskosen Gemisches mit einer 0,5 mol KCl-Lösung verdoppelt und bei $2250 \times g$ 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde mit aqua dest. bis zur Ionenstärke von 0,2 verdünnt. Nach dem Sichtbarwerden von ausgeflocktem Actomyosin wurde abermals zentrifugiert. Zur Konzentrierung, Reinigung und weiteren Erniedrigung der Elektrolytkonzentration wurde das Eiweißgel mehrmals in aqua dest. ausgefällt und zentrifugiert. Auch bei den folgenden Versuchen wurde das Actomyosin auf diese Weise dargestellt. Die Eiweißkonzentration wurde nach Kjeldahl bestimmt. Sie betrug 1,2 %.

Die SH-Bestimmung wurde mit 11 verschieden behandelten Proben durchgeführt. Die Ionenstärke betrug im Falle von Elektrolytzusatz jeweils $I = 0,41$. Die verwendeten Salzzusätze waren jeweils NaCl, $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ (Trinatriumdiphosphat; im Text kurz Phosphat genannt) und die Kombination beider Salze, wobei im letzten Fall der Phosphatzusatz 0,3 % betrug. Folgende Versuchsreihen wurden durchgeführt:

1. nicht erhitzt mit und ohne Salzzusätze;
2. erhitzt mit und ohne Salzzusätze;
3. erhitzt - Salzzugabe erst nach dem Erhitzen.

Die Standardmethode der SH-Gruppenbestimmung mit NEM von HOFMANN (117) wurde geringfügig modifiziert. Je 5 g Actomyosin wurden in Rollrandgläschen bei 65°C im Wasserbad 30 min erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde dann das Untersuchungsmaterial in verschließbare 90 ml-Zentrifugierhülsen aus Polyäthylen verlustlos übergeführt und mit 6 ml NaOH-Citratpuffer (pH 6) nachgespült. Im Anschluß wurden jeweils 10 ml einer 10^{-3}M NEM-Lösung (Extinktion (E) = 0,62) dazugegeben. Zur Ermittlung der Blindwerte wurde statt der NEM-Lösung die gleiche Menge Wasser zugesetzt. Das Gemisch wurde dann 105 min bei 25°C im Wasserbad geschüttelt und anschließend bei $15000 \times g$ 5 min zentrifugiert. 10 ml des klaren Überstandes wurden zu 2 ml Trichloressigsäure-Lösung (20 %ig) pipettiert. Das ausgefallte Protein wurde 5 min bei $15000 \times g$ abzentrifugiert und der Überstand in Quarzküvetten ($s = 1 \text{ cm}$) bei 300 nm mit einem

Beckmann-Spektralphotometer gemessen. Die NEM-Lösung mußte infolge allmählicher hydrolytischer Zersetzung täglich neu bereitet werden. Aus demselben Grunde wurde ein für die einzelnen Salze unterschiedlicher Korrekturwert ermittelt und zur abgelesenen Extinktion hinzuaddiert. Er betrug bei NaCl-haltigen und -freien Proben 0,002; bei der kombinierten Salzanwendung (NaCl + Phosphat) 0,003 und bei alleinigem Phosphatzusatz 0,01. Phosphat beschleunigt somit die hydrolytische Spaltung von NEM. Die Größe der Extinktionsabnahme bzw. des NEM-Verbrauches kann nach Berücksichtigung des Korrekturwertes direkt mit der Menge der in der Probe nachgewiesenen SH-Gruppen in Beziehung gesetzt werden, da NEM in molaren Verhältnissen mit den SH-Gruppen reagiert.

3.1.3. Versuchsergebnis

Für die Berechnung des SH-Gehaltes gilt folgende Formel (Volumina in L):

SH (mg SH/g Protein) =

$$\left(V_{\text{NEM}} \times C_{\text{NEM}} - V_{\text{R}} \times \frac{(V_{\text{a}} + V_{\text{TCA}}) \times (E_{\text{NEM}} + \Delta E)}{V_{\text{a}} \times \epsilon \times s} \right) \text{MG}_{\text{SH}} \times F$$

V_{NEM} : Volumen der Standardlösung;

C_{NEM} : Konzentration der Standardlösung;

V_{R} : $V_{\text{NEM}} + V_{\text{Puffer}} + V_{\text{Probe}}$;

V_{a} : Volumen der mit TCA behandelten Reaktionslösung;

V_{TCA} : Volumen der TCA-Lösung;

E_{NEM} : abgelesene Extinktion;

ΔE : Korrekturwert infolge hydrolytischer Spaltung;

ϵ : molarer Extinktionskoeffizient (für NEM = 620);

s : Schichtdicke der Küvette;

MG_{SH} : Molekulargewicht der SH-Gruppe = 33,07;

F : Umrechnungsfaktor von g SH/Probe auf mg SH/g Protein ;
(für diesen Versuch: $5/3 \times 10^4$);

Setzt man die bei diesem Versuch angewandten Größen ein, so gilt:

$$\text{SH: } 10 - 39,76 (E_{\text{NEM}} + \Delta E) \times 0,5507.$$

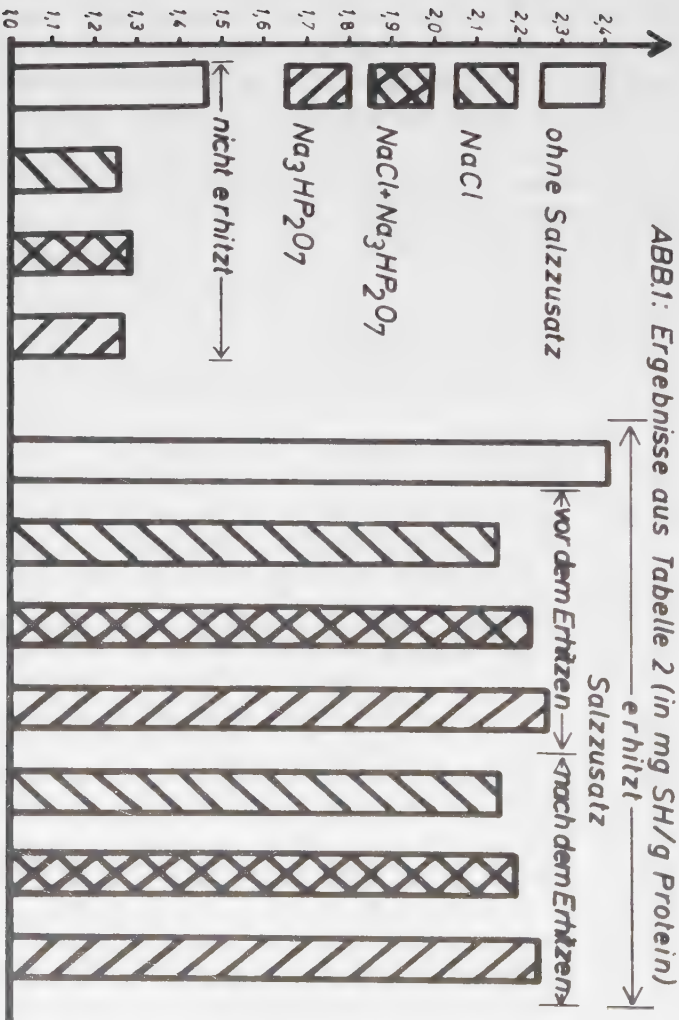
Die Ergebnisse (siehe Tab. 2, Abb. 1) zeigen, daß Elektrolyt-zusatz die Zahl der mit NEM bestimmbaren SH-Gruppen verringert. Nach Erhitzung auf 65° C konnten erheblich mehr SH-Gruppen (jeweils etwa 1 mg/g Protein) nachgewiesen werden. Bei einem Vergleich der Proben, bei denen das entsprechende Salz vor bzw. nach dem Erhitzen zugegeben wurde, konnte kein Unterschied festgestellt werden.

Tabelle 2: Einfluß von Elektrolyten * auf die mit NEM bestimmbaren SH-Gruppen von Actomyosin mit und ohne thermischer Behandlung (in mg ^{SH}/g Protein)

	ohne Salz	NaCl	NaCl+Na ₃ HP ₂ O ₇	Na ₃ HP ₂ O ₇
nicht erhitzt	1,461 (±0,0309)	1,257 (±0,0208)	1,285 (±0,029)	1,264 (±0,0226)
erhitzt (65° C)	2,414 (±0,0371)	2,146 (±0,0285)	2,229 (±0,014)	2,263 (±0,0153)
erhitzt (Salzzugabe nach Erhitzung)		2,15 (±0,0216)	2,195 (±0,0127)	2,244 (±0,0221)

Mittelwert und Standardabweichung wurden aus jeweils 6 Bestimmungen errechnet.

* = Die Ionenstärke betrug jeweils 0,41, der Phosphatzusatz bei der kombinierten Salzzugabe 0,3 %.



3.1.4. Diskussion

Durch Erhitzen werden die mit NEM bestimmbaren SH-Gruppen zugänglicher. Die Ergebnisse stimmen gut mit den von HOFMANN (117) erzielten Daten bei Myofibrillen überein, sind aber insgesamt etwas höher. Weshalb bei den nichterhitzten Proben bei Salzanwesenheit etwa 12 - 14 % weniger SH-Gruppen nachzuweisen sind, kann nicht erklärt werden. Die Meinung von SWIFT und SULZBACHER (238), wonach es durch Elektrolytwirkung infolge Erhöhung der Nettoladung zu einer Vergrößerung des Windungsabstandes und teilweisen Entfaltung kommt, kann somit nicht bekräftigt werden; jedoch ist sie auch nicht zu widerlegen, da theoretisch auch eine Ionenabsorption der Elektrolyte an die funktionellen Gruppen die Zahl der bestimmbaren SH-Gruppen reduzieren könnte. Eine Verminderung des Sulfhydrylgehalts, wie dies bei der Entwicklung der Pökelfarbe durch Nitrit bekannt ist (52, 118, 258), kann durch NaCl und Phosphat nicht möglich sein, da es sich um keine "Redox-Salze" handelt.

Bei den erhitzten Proben konnten infolge Elektrolytanwesenheit ebenfalls weniger SH-Gruppen nachgewiesen werden, jedoch betrug die Abnahme bei NaCl nur etwa 11 und bei Phosphat sogar nur 6 %. Ferner konnte bei diesem Versuch gezeigt werden, daß Salz beim Erhitzen keinen Einfluß auf die Auffaltung zeigt, da es ohne Bedeutung ist, ob das Salz vor oder nach dem Erhitzen zugegeben wird. In beiden Fällen ist die Menge der mit NEM bestimmbaren SH-Gruppen gleich. Der die Denaturierung verzögernde Effekt der Salze kann somit zumindest nicht auf eine unterschiedliche Molekülfaltung zurückgeführt werden.

3.2. Bestimmung des Löslichkeitsverlustes von Actomyosin bei verschiedenen Temperaturen

3.2.1. Problemstellung

Ein wichtiges und leicht zu erkennendes Merkmal bei der Hitzebehandlung gelöster Proteine ist die Veränderung der Löslichkeit. Auffaltung, Zutagetreten reaktionsfähiger Gruppen, Verringerung der Nettoladung und Aneinanderlegen mehr oder weniger

großer Molekülabschnitte dürften die Voraussetzung für Aggregation und das Knüpfen intermolekularer Brücken sein. Das Eiweiß verliert dadurch seine im nativen Zustand besessene Löslichkeit (12, 131, 137, 170, 256). Bei den wasserunlöslichen Eiweißkörpern Myosin und Actomyosin wird die "Löslichkeit" von der Ionenstärke bestimmt. Erst ab $I > 0,3$ ist das Eiweiß molekulardispers gelöst. Über den Verlust der "Salzlöslichkeit" fibrillärer Proteine sind in der Literatur nur vage Angaben zu finden (45, 51, 72, 86, 134, 157, 239, 270). Dies gilt besonders für den die Denaturierung schützenden, vermuteten Effekt der Salze (49, 51, 145). In einem Versuch soll der Einfluß der Ionenstärke zweier Salze (NaCl , $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$) bei verschiedenen Temperaturen geprüft werden.

3.2.2. Versuchsanordnung

Der Versuch wurde mit einer schwach konzentrierten Actomyosinlösung (0,22 %ig) durchgeführt, damit bei der Hitzeokoagulation kein zusammenhängendes Eiweißgerüst entsteht, das die Bestimmung des noch löslichen Anteiles erschweren würde.

Bei den entsprechenden Ionenstärken (0,2; 0,3; 0,41; 0,6; 1,2) wurden jeweils NaCl , Phosphat ($\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$) und die Kombination beider Salze verwendet. Der Phosphatzusatz zum NaCl betrug in allen Fällen 0,3 %.

Die "Salz-Eiweißlösungen" wurden auf pH 7 (NaOH , HCl) eingestellt. Es wurden jeweils 10 g in 12 ml-Zentrifugiergläser eingewogen und im Wasserbad bei den entsprechenden Temperaturen (20 - 71° C) 30 min erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde den Proben eine bestimmte Menge NaCl und Phosphat zugegeben, damit bei der Bestimmung des noch löslichen Anteiles immer eine Gesamtionenstärke von 1,2 (I für NaCl und Phosphat betrug jeweils 0,6) vorherrschte. Nicht mehr in Lösung gegangenes Eiweiß wurde bei 2250 x g (10 min) abzentrifugiert. Der Überstand wurde bei 270 nm photometrisch gemessen. Die photometrische Bestimmung stellt keine exakte Methode dar, denn die Extinktion des noch gelösten Eiweißes erhöht sich mit steigenden Temperaturen. Der Grund dieser Extinktionsveränderung liegt in der Auffaltung

des Moleküls (268). Die Extinktionswerte wurden ab 47°C durch experimentell ermittelte Werte mit phosphathaltigen Actomyosinlösungen ($I = 1,2$) korrigiert, bei denen das gesamte Eiweiß trotz Erhitzung in Lösung blieb. Da besonders bei den höheren Temperaturen die Löslichkeitsverluste der mit entsprechenden Salzen behandelten Actomyosinlösungen größere Unterschiede aufwiesen, wirkten sich eventuell auftretende Ungenauigkeiten durch die Bestimmungsmethode weniger auf die Ergebnisse aus. Da bei diesem Versuch einige hundert Bestimmungen durchgeführt wurden und teilweise sehr geringe Eiweißkonzentrationen zu ermitteln waren sowie mit kleinen Volumina gearbeitet werden mußte, war keine andere Methode der Eiweißbestimmung geeignet.

3.2.3. Versuchsergebnis

Die Ergebnisse (siehe Tab. 3 und 4 sowie Abb. 2) dieser Versuchsreihe zeigen einen gravierenden Unterschied zwischen Actomyosin im Gel- und Solzustand. Konzentration und Art des Salzes (bei $I = 0,3$ war das Eiweiß noch nicht molekulardispers gelöst) haben praktisch keinen schützenden Effekt beim Erhitzen auf das Muskeleiweiß, solange sich dieses noch im Gelzustand befindet. So nimmt die "Salzlöslichkeit" mit zunehmender Temperatur ($30 - 49,5^{\circ}\text{C}$) fast linear ab; nur zwischen 45 und $47,5^{\circ}\text{C}$ ist die Löslichkeitsabnahme (außer bei NaCl) etwas verstärkt. Von $49,5 - 59^{\circ}\text{C}$ wird nur noch wenig zusätzliches Eiweiß unlöslich. Bei 59°C sind immer noch etwa 10% löslich.

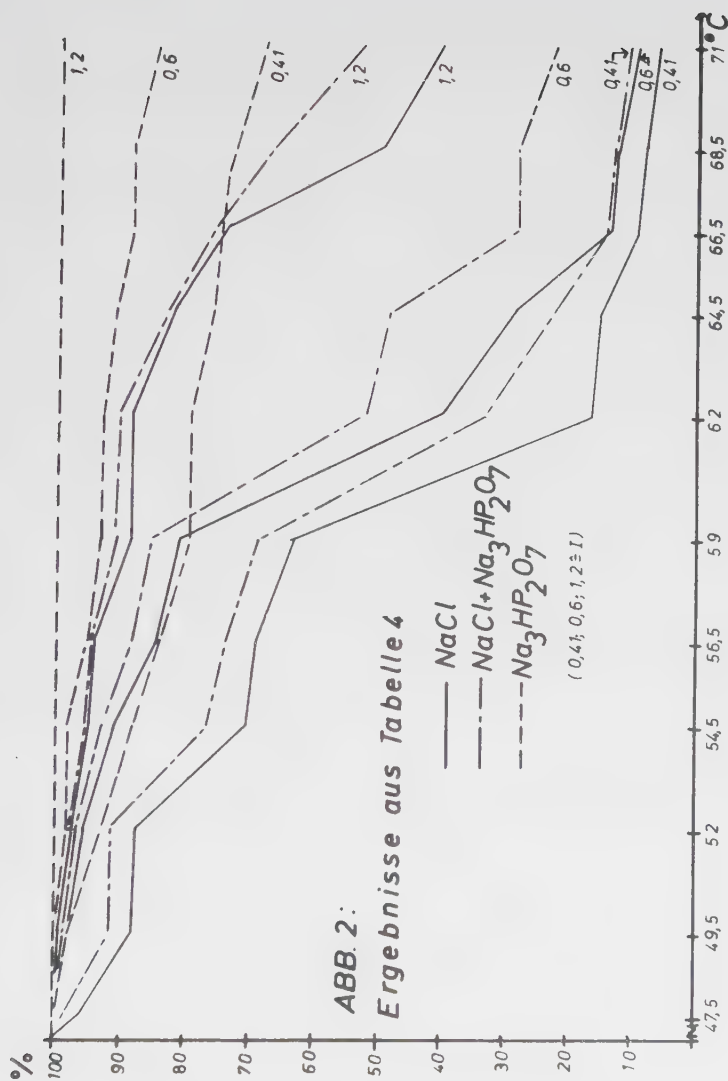
Die Erhöhung der Ionenstärke von $0,2$ auf $0,3$ zeigt nur eine geringgradige Hemmung der Hitzekoagulation. Erst bei Ionenstärken, die Actomyosin in den Solzustand versetzen, konnte ein deutlich schützender Effekt, der mit steigender Salzkonzentration zunimmt, nachgewiesen werden. Ein großer Teil des Actomyosins koaguliert bei Kochsalzzusatz und der kombinierten Salzanwendung ($I = 0,41$ bzw. $0,6$) zwischen 59 und 62°C . Phosphat zeigt einen deutlich zusätzlichen Effekt. So konnte bei $I = 0,41$ nur etwa ein Drittel des Eiweißes ausgefällt werden, während mit Ionenstärken von $1,2$ sämtliches Eiweiß in Lösung blieb.

Tabelle 3: Bestimmung des noch löslichen Anteils (in %) von Actomyosinlösungen bei verschiedenen Temperaturen und Ionenstärken (I = 0,2; 0,3) Mittelwert aus 3 Bestimmungen

°C	ohne Salz	NaCl		NaCl+Na ₃ HP ₂ O ₇		Na ₃ HP ₂ O ₇	
		0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3
30	94,1	97,8	98,8	96,1	94,8	98,8	99,2
33	92,1	92,3	92,6	90,9	90,4	98,2	97,8
35	88,2	90,7	90,8	88,3	87,4	90,3	89,8
37	75,6	75,8	88,1	64,5	74,3	69,4	74,4
39	71,8	74,3	87,8	63,7	68,9	67,2	75,1
41	68,1	53,1	59,3	60,6	68,5	64,3	65,4
43	60,5	39,4	42,8	57,6	59,4	62,2	61,8
45	57,2	32,5	33,2	54,9	59,0	57,3	59,9
47,5	30,9	24,0	23,7	29,5	34,2	26,6	38,4
49,5	19,2	16,8	21,4	17,1	23,7	16,7	25,0
52	13,6	14,2	16,9	15,8	18,2	14,4	19,1
54,5	11,8	12,5	16,2	14,4	16,7	13,4	16,5
56,5	11,8	11,8	11,9	13,6	13,6	13,4	13,5
59	8,1	9,4	10,5	12,8	12,2	11,8	11,9

Tabelle 4: Bestimmung des noch löslichen Anteils (in %) von Actomyosinlösungen bei verschiedenen Temperaturen und Ionenstärken (I = 0,41; 0,6; 1,2) Mittelwert aus 3 Bestimmungen

°C	NaCl			NaCl+Na ₃ HP ₂ O ₇			Na ₃ HP ₂ O ₇		
	0,41	0,6	1,2	0,41	0,6	1,2	0,41	0,6	1,2
47,5	96,1	100,0	100,0	98,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
49,5	88,1	98,8	100,0	91,6	98,0	100,0	95,0	100,0	100,0
52,0	87,8	95,7	97,8	91,6	97,7	98,1	93,0	97,7	100,0
54,5	70,7	90,8	95,2	76,8	93,9	97,4	89,2	97,7	100,0
56,5	69,1	84,0	94,5	73,7	88,2	95,2	84,8	95,2	100,0
59,0	63,4	80,8	88,6	68,9	85,3	89,8	79,2	93,4	100,0
62,0	16,7	40,8	88,4	33,4	52,2	90,3	79,2	93,2	100,0
64,5	15,4	28,8	82,5	22,8	48,5	83,6	76,1	91,3	100,0
66,5	9,5	14,3	74,0	14,3	28,5	75,4	74,8	57,5	100,0
68,5	8,5	13,0	50,0	12,6	28,5	66,9	74,0	87,5	100,0
71,0	6,3	9,5	40,7	10,9	22,7	52,7	68,3	84,9	100,0



3.2.4. Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, daß Salz erst einen Schutz vor der Hitzekoagulation zeigt, wenn das Eiweiß molekulardispers vorliegt. Durch Erhöhung der Salzkonzentration vergrößert sich die elektrostatische Abstoßung der kolloidalen Teilchen, und es ist anzunehmen, daß sich dadurch die intermolekulare Brückenbildung und Aggregation erschwert, obwohl die Auffaltung des Moleküls trotz Salzanwesenheit ungehindert ablaufen dürfte (wie im vorhergehenden Versuch gezeigt werden konnte). Auffaltung und Löslichkeitsverlust bzw. Hitzekoagulation müssen somit bei Elektrolytzusatz nicht Hand in Hand gehen. Da aber Phosphat einen stärkeren Effekt zeigt als NaCl, kann die Vergrößerung der Nettoladung durch die Elektrolytwirkung nicht von alleiniger Bedeutung sein. Es wäre denkbar, daß die dissoziierende Wirkung der Phosphate durch Molekülverkleinerung für die Löslichkeit günstigere Bedingungen schafft. Ist dies der Fall, so müßte Phosphat bei Myosinlösungen einen bedeutend geringeren zusätzlichen Schutz vor Denaturierung zeigen als bei Actomyosinlösungen. Entsprechende Versuche darüber sind nicht bekannt. Da jedoch Phosphatzusatz zu NaCl einen erheblich geringeren Effekt als die alleinige Phosphatanwendung zeigt und sich mit steigenden Phosphatmengen der "Denaturierungsschutz" erhöht, obwohl die Dissoziation bereits bei niedrigeren Phosphatmengen ziemlich abgeschlossen sein dürfte, kann angenommen werden, daß die dissoziierende Wirkung der Phosphate bei der Hitzekoagulation von untergeordneter Bedeutung ist.

Vielen Wissenschaftlern zufolge (1, 60, 162, 217, 244, 269, 271) besitzt Phosphat eine stärkere Affinität zum fibrillären Muskeleiweiß als Neutralsalze. Diese Bindung bleibt zum großen Teil auch nach dem Erhitzen bestehen. Dies könnte den zusätzlichen Phosphateffekt hinreichend erklären, da die durch Auffaltung freigelegten reaktionsfähigen Gruppen durch Phosphate wirkungsvoller abgeschirmt und blockiert werden als durch "Neutralsalze". Die Entstehung zwischenmolekularer Bindungen dürfte dadurch erschwert werden. Die Elektrolytwirkung

beim Erhitzen auf das fibrilläre Eiweiß kann jedoch nicht allein damit erklärt werden, da geringe Ionenstärken (bis 0,3) keine Wirkung zeigen. Offensichtlich setzten die oben vermuteten Wirkungen (Vergrößerung der elektrostatischen Abstoßung und Blockierung der funktionellen Gruppen) erst dann ein, wenn die "kolloiden Teilchen" molekulardispers gelöst sind. Die im Gelbereich vorhandenen Berührungspunkte der Eiweißfäden dürften die Hitzekoagulation in gleicher Weise begünstigen, auch wenn eine gewisse Salzwirkung bereits vorhanden ist.

3.3. Bestimmung der Emulsionskapazität, Emulsionsstabilität und Gerüstbildung von Actomyosinlösungen

3.3.1. Problemstellung

Es ist bekannt, daß Phosphatzusatz die Wirkung des Kochsalzes bei der Brühwurstherstellung bedeutend verbessert. Der Grund dafür liegt vor allem in der Peptisationswirkung und der Verbesserung der Extraktion myofibrillärer Proteine (15, 48, 57, 88, 144). Häufig durchgeführte Versuche, die den Praxisbedingungen entsprechen, können zwar wertvolle Hinweise für den Praktiker liefern, jedoch kaum zur Grundlagenforschung beitragen, denn bei all diesen Versuchsreihen wird die direkte Wirkung des Salzes auf das fibrilläre Protein besonders durch unterschiedliche Mengen extrahierten Eiweißes (bedingt durch Salzart, -konzentration, Fleischcharge, Fleischzustand etc.) überlagert.

Unter verschiedenen Bedingungen sollte nun geprüft werden, inwieweit Kochsalz und Phosphat Emulgierung und Strukturbildung beim Erhitzen beeinflussen, wenn der Anteil des fibrillären Eiweißes bei den entsprechenden Versuchen gleichbleibt, sich also jeweils nur Salzart und -konzentration ändern.

Unterschiedliche Vorgänge bei der Emulgierung können durch Bestimmung der Emulsionskapazität und -stabilität näher charakterisiert werden. Die Untersuchung einer eventuell veränderten

Emulsionskapazität durch Salze hat zwar keinen direkten Bezug zum Thema, es ist aber denkbar, daß sich daraus wertvolle Hinweise ergeben für die Deutung etwaiger Unterschiede in der Emulsionsstabilität.

Viskosität, Grad der Dispergierung sowie Beschaffenheit des Eiweißfilmes, der die ölige Phase umgibt, und vor allem die Fähigkeit des in der Emulsion gelöst vorhandenen Eiweißes, bei der thermischen Behandlung ein Gerüst zu bilden, können vor allem das bei Hitzeeinwirkung auftretende Bestreben der öligen Phase zu koaleszieren vermindern.

3.3.2. Beschreibung der Emulsionsbereitung

Die Emulsionen wurden nicht mit Schlachttierfetten hergestellt, sondern mit Erdnußöl, um Dosierung und Emulgierung exakter durchführen zu können. Damit Emulsionsbereitung, Ölabsatz und Phasentrennung gut zu verfolgen waren, wurde das Öl mit Sudan IV gefärbt. Das Öl war somit tief weinrot und die Emulsion jeweils rosarot gefärbt, während Wasser bzw. Eiweißlösung im Falle des Absatzes ungefärbt blieben. Öl, Emulsion, Eiweißlösung und Wasser waren also farblich deutlich zu unterscheiden. Die Emulsionen wurden mit einem Ultra-Turrax (Typ TP 18-10 der Fa. Janke und Kunkel) bei etwa 1200 Umdrehungen/min (Stufe 7) bereitet.

3.3.3. Bestimmung der Emulsionskapazität

3.3.3.1. Versuchsanordnung

Die Methode nach CARPENTER und SAFFLE (25) wurde modifiziert. Jeweils 15 g einer entsprechenden Actomyosinlösung (0,3 %ig) wurden mit 28 g Erdnußöl im Becherglas für 30 sec emulgiert. Anschließend wurde während ständiger, gleichmäßiger Ölzugabe aus einer 30 ml Pipette (mit einer Tropfgeschwindigkeit von 0,4 ml/sec) so lange weiter emulgiert, bis es zur Phasenumkehr

- ersichtlich durch plötzlichen Viskositätsabfall - kam. Vor Eintritt der Phasenumkehr war die Viskosität der Emulsion sehr hoch, und das Öl konnte somit nur schlecht emulgiert werden. Aus diesem Grunde wurde die Ölzufuhr für jeweils 5 sec unterbrochen, so daß vor dem Emulsionsbruch die an der Oberfläche angesammelte geringe Ölmenge noch emulgiert werden konnte. Der gewünschte Ölfluß wurde erreicht, indem auf die Spitze der Pipette ein etwa 5 cm langes und 2 mm dickes Gummischläuchchen aufgesetzt wurde, das bei Bedarf jeweils mit einer Klemme abgedrückt werden konnte.

3.3.3.2. Versuchsergebnis

Die Emulsionskapazität der Actomyosinlösung war bei den verwendeten Salzen nur bei $I = 0,41$ gegenüber der salzfreien Kontrolle erhöht. Phosphat zeigte eine zusätzliche Wirkung.

Tabelle 5: Emulsionskapazität (emulgierte Menge Öl
in g/15 g Actomyosinlösung (0,3 %ig))
Mittelwert aus jeweils 3 Bestimmungen

Salzart	Ionenstärke	g Öl/15 g Actomyosinlösung
ohne Salzzusatz	--	44,0
NaCl	0,24	43,0
NaCl	0,41	46,4
NaCl+Na ₃ HP ₂ O ₇	0,24	43,4
NaCl+Na ₃ HP ₂ O ₇	0,41	50,0
Na ₃ HP ₂ O ₇	0,24	42,6
Na ₃ HP ₂ O ₇	0,41	50,6

3.3.3.3. Diskussion

Nach SULZBACHER (233) ist die Erhöhung der Emulsionskapazität durch Salze infolge Auffaltung des Eiweißmoleküls denkbar. Dies konnte jedoch weder durch Bestimmung der SH-Gruppen (3.1.4.) noch über die Emulsionskapazität bestätigt werden. Es kommt nämlich erst bei Ionenstärken, bei denen Actomyosin molekulardispers vorliegt (siehe 3.3.4.), zur Verbesserung

der Kapazität, während eine weitere Erhöhung der Elektrolytkonzentration keine zusätzliche Steigerung (238) erkennen läßt. Die Emulsionskapazität wird durch Phosphat besonders begünstigt. Es ist möglich, daß die Dissoziation des Actomyosinkomplexes dafür verantwortlich ist. Hierfür spricht auch die Beobachtung von BOIS und Mitarbeitern (35), die durch Molekülverkleinerung (enzymatische Spaltung mit Papain) die Kapazität um 30 % steigern konnten.

3.3.4. Bestimmung der Emulsionsstabilität mittels Phasentrennung

3.3.4.1. Versuchsanordnung

Je 24 g einer entsprechenden Actomyosinlösung (0,6 %ig) wurden mit jeweils 15 g Öl 30 sec emulgiert und anschließend sofort in graduierte 15 ml-Zentrifugengläser (jeweils 12 g) eingefüllt. Die Emulsionen bestanden zu etwa 60 % aus Actomyosinlösung und zu 40 % aus Öl und waren somit relativ niederviskos, so daß bereits nach wenigen Minuten eine Phasentrennung eintrat. Sie wurde jeweils nach bestimmten Zeiten abgelesen.

3.3.4.2. Versuchsergebnis

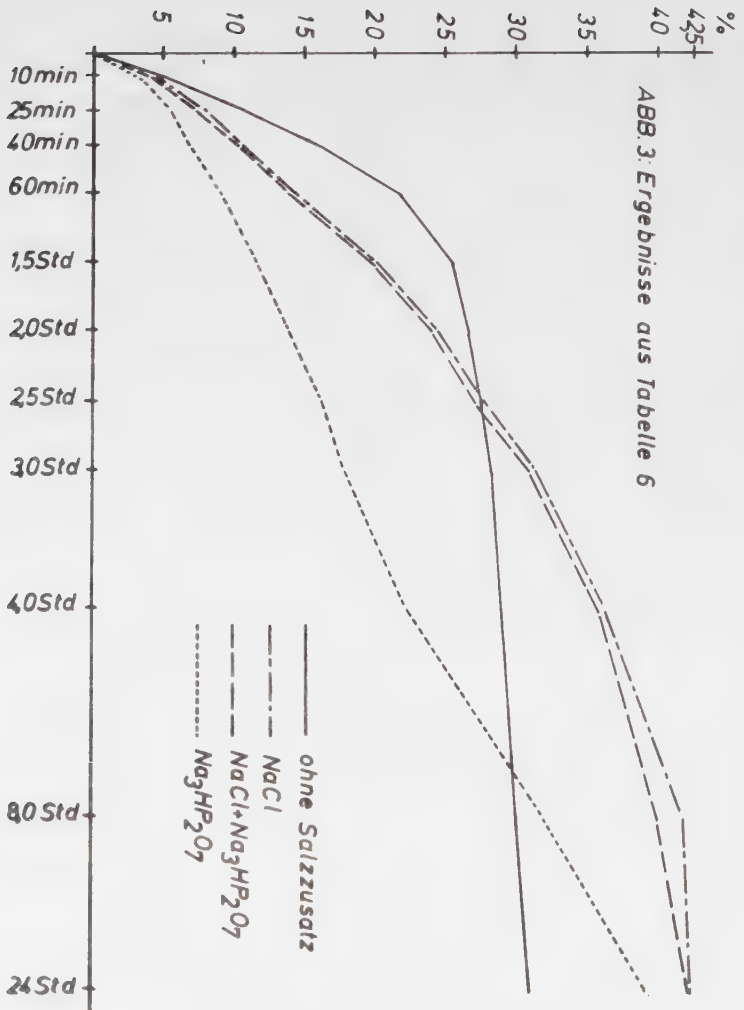
Kochsalz bzw. Kochsalz mit Phosphatzusatz verringern die Phasentrennung im Vergleich zur salzfreien Emulsion. Phosphat allein angewandt, verzögert die Phasentrennung am stärksten (siehe Tab. 6, Abb. 3).

Tabelle 6: Emulsionsstabilität

Bestimmung der Phasentrennung (in %)

Mittelwert aus 6 Bestimmungen

Zeit	salzfrei	NaCl	NaCl+Na ₃ HP ₂ O ₇	Na ₃ HP ₂ O ₇
10 min.	5,0 ($\pm 0,032$)	4,5 ($\pm 0,045$)	4,5 ($\pm 0,032$)	3,5 ($\pm 0,045$)
25 min.	10,8 ($\pm 0,52$)	7,8 ($\pm 0,27$)	7,4 ($\pm 0,58$)	5,5 ($\pm 0,55$)
40 min.	16,9 ($\pm 0,33$)	10,5 ($\pm 0,32$)	10,5 ($\pm 0,55$)	7,0 ($\pm 0,55$)
60 min.	21,5 ($\pm 0,55$)	14,0 ($\pm 0,42$)	13,9 ($\pm 0,58$)	9,0 ($\pm 0,32$)
90 min.	25,5 ($\pm 0,45$)	20,0 ($\pm 0,52$)	20,0 ($\pm 0,55$)	11,5 ($\pm 0,32$)
2 Std.	26,8 ($\pm 0,52$)	24,5 ($\pm 0,45$)	24,0 ($\pm 0,42$)	14,0 ($\pm 0,45$)
2,5 Std.	27,5 ($\pm 0,32$)	27,8 ($\pm 0,42$)	27,5 ($\pm 0,42$)	16,5 ($\pm 0,52$)
3 Std.	28,3 ($\pm 0,42$)	31,3 ($\pm 0,48$)	31,0 ($\pm 0,45$)	17,8 ($\pm 0,42$)
4 Std.	29,0 ($\pm 0,45$)	36,8 ($\pm 0,53$)	36,0 ($\pm 0,32$)	22,3 ($\pm 0,42$)
8 Std.	30,0 ($\pm 0,55$)	41,8 ($\pm 0,27$)	40,0 ($\pm 0,70$)	32,0 ($\pm 0,70$)
24 Std.	31,0 ($\pm 0,62$)	42,0 ($\pm 0,71$)	42,0 ($\pm 0,55$)	39,0 ($\pm 0,54$)



3.3.4.3. Diskussion

Vorausgesetzt, daß die Emulsionsstabilität von Viskosität und Grad der Emulgierung abhängt (73), dürfte die deutlich geringere Emulsionsstabilität der salzfreien Emulsion während der ersten 2 1/2 Std. auf die schlechte Emulgierung zurückzuführen sein. Offensichtlich tritt jedoch eine allmähliche Viskositätserhöhung ein, und die Phasentrennung nimmt nur noch unbedeutend zu. Durch Kochsalzzusatz sowie kombinierte Salzanwendung (NaCl + Phosphat) verbessert sich die Emulsionsstabilität in gleicher Weise. Da jedoch durch Phosphatzusatz die Viskosität erniedrigt wird, dürfte zwangsläufig die Dispergierung verbessert sein. Bei alleiniger Phosphatanwendung kommt es durch weitere Erniedrigung der Grenzflächenspannung zu einer noch feineren Verteilung der öligen Phase, und die Phasentrennung ist stark reduziert.

3.3.5. Bestimmung der Gerüstbildung im Emulsionen ("Emulsionsstabilität") und Actomyosinlösungen beim Erhitzen

3.3.5.1. Bestimmung der Emulsionsstabilität

3.3.5.1.1. Versuchsanordnung

36 g Actomyosinlösung (1,2 %ig) wurden mit 49,5 g Öl emulgiert. Die relativ viskose Emulsion wurde in graduierte 15 ml-Zentrifugenhülsen eingefüllt (pro Charge 6 x 12 g). Drei Zentrifugengläser wurden jeweils bei 70° C im Wasserbad für 15 min erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden sie zusammen mit den restlichen drei nicht erhitzten Zentrifugengläsern 10 min bei 750 x g zentrifugiert. Die Differenz der unterschiedlichen Phasentrennung zwischen den erhitzten und nicht erhitzten Proben ist auf die Hitzekoagulation des Actomyosins zurückzuführen. Nach dem Ablesen der Phasentrennung wurde die Emulsion nochmals bei 1050 x g und nach abermaligem Ablesen noch bei 1200 x g zentrifugiert.

3.3.5.1.2. Versuchsergebnis

Bei salzfreier Emulsion wird beim Erhitzen erwartungsgemäß kein bzw. kein zusammenhängendes Gerüst gebildet. NaCl hat deutliche Gerüstbildung zur Folge. Durch Erhöhung der Drehzahl wird das Volumen des Gerüstes eingeengt. NaCl mit Phosphatzusatz zeigt kaum Gerüstbildung. Phosphat allein besitzt insbesondere bei höheren Drehzahlen deutlich negative Wirkung.

Die Phasentrennung durch Zentrifugieren der nicht erhitzten Emulsionen stimmt mit dem Ergebnis der Bestimmungen der Emulsionsstabilität - Phasentrennung durch Stehenlassen - (siehe 3.3.4.2.) gut überein; Phosphat hat hierbei deutlich positive Wirkung.

Tabelle 7: Gerüstbildung bzw. Emulsionsstabilität durch Zentrifugieren von erhitzten und nicht erhitzten Emulsionen (Phasentrennung in %).

Mittelwert aus 6 Bestimmungen

	g^*	salz- frei	NaCl	NaCl+ Na ₃ HP ₂ O ₇	Na ₃ HP ₂ O ₇
erhitzt	750	24,5 (±0,8)	--- ---	8,5 (±0,8)	8,8 (±0,5)
nicht erhitzt	750	22,3 (±0,8)	11,1 (±0,4)	10,5 (±0,6)	4,5 (±0,4)
Differenz		- 2,2	+ 11,1	+ 2,0	- 4,3
erhitzt	1050	28,5 (±0,6)	10,0 (±0,5)	15,8 (±0,7)	15,9 (±0,4)
nicht erhitzt	1050	29,5 (±0,6)	17,0 (±0,5)	16,8 (±0,5)	10,0 (±0,7)
Differenz		+ 1,0	+ 7,0	+ 1,0	- 5,9
erhitzt	1200	31,0 (±1,0)	19,4 (±0,4)	20,3 (±0,7)	22,7 (±0,5)
nicht erhitzt	1200	32,0 (±0,6)	23,0 (±0,8)	22,8 (±0,8)	14,5 (±0,5)
Differenz		+ 1,0	+ 3,6	+ 2,5	- 8,2

* = Erdbeschleunigung

3.3.5.2. Bestimmung der Gerüstbildung von Actomyosinlösungen

3.3.5.2.1. Versuchsanordnung

Je 10 g der entsprechenden Actomyosinlösungen ($I = 0,41$) bzw. -gele wurden in 15 ml-Zentrifugenhülsen bei den jeweiligen Temperaturen 10 min erhitzt, und nach dem Abkühlen wurde die Gerüstbildung durch "Umkehr- und Schütteltest" und teils auch durch Zentrifugieren bei $2250 \times g$ überprüft. Um den Versuch möglichst objektiv zu gestalten, wurden die Zentrifugenhülsen mit den vier verschiedenen Chargen jeweils gleichzeitig umgedreht und deren Auslaufen beobachtet bzw. bei ausreichend vorhandener Gerüstbildung in einer Hand geschüttelt (also mit praktisch gleicher Intensität). Ein Vergleich der vier Chargen war so bei der entsprechenden Temperatur sehr gut möglich.

3.3.5.2.2. Versuchsergebnis

Der Versuch zeigt (ähnlich wie der vorhergehende), daß Phosphat einen ungünstigen Einfluß auf die Gerüstbildung von Actomyosin beim Erhitzen hat. Die Gerüstbildung bei salzfreiem Actomyosin setzt zwar noch später ein als bei der phosphathaltigen Eiweißlösung, verhält sich aber bei weiterer Temperaturerhöhung günstiger. Alle Ansätze, die nicht von selbst ausliefen, zeigten beim Zentrifugieren auch keinen Flüssigkeitsabsatz.

Tabelle 8: Bestimmung der Gerüstbildung von Actomyosinlösungen bei der Hitzekoagulation

°C	salzfrei	NaCl (I = 0,41)	NaCl+Na ₃ HP ₂ O ₇ (I = 0,41)	Na ₃ HP ₂ O ₇ (I = 0,41)
42	---	--	--	---
46	--	+	(+)	-
48	-	++	+	(+)
50	+	++	++	+
52	++	+++	++	+
56	++	+++	++	+
58,5	++	++++	+++	++
62	+	++++	+++	+
70	(+)	++++	++	-
80	(+)	+++	+	--

++++ = äußerst gute Stabilität

+++ = sehr gute Stabilität

++ = relativ gute Stabilität

+ = genügend gute Stabilität (gerade noch ausreichend, ohne von selbst auszulaufen)

(+) = läuft erst nach einiger Zeit aus

- = läuft bereits aus, aber sehr viskos

-- = relativ viskos

--- = dünn flüssig, geringe Viskositätserhöhung gegenüber nicht Erhitztem.

3.3.5.3. Diskussion

Trotz Begünstigung der Emulgierung durch Phosphat (siehe 3.3.3.2. und 3.3.4.2.) war hierbei die Tendenz zur Gerüstbildung beim Erhitzen geringer, was damit korrespondiert, daß Phosphat starken Denaturierungsschutz bietet (siehe 3.2.4.). Bei alleiniger Phosphatanwendung flockt ein gewisser Eiweißanteil aus; die Viskosität erniedrigt sich, und die Phasentrennung ist aus diesem Grunde und wohl auch infolge Koaleszenz der öligen Phase sogar größer als im nicht erhitzten Zustand.

In salzfreier Emulsion bestand eher die Tendenz zur Gerüstbildung. Infolge ungenügender elektrostatischer Abstoßung im Gelzustand war sie aber trotz ausgeprägter Hitzekoagulation nicht zusammenhängend.

Die NaCl-haltige, jedoch phosphatfreie Emulsion zeigte die beste Gerüstbildung, obwohl die Hitzekoagulation auch durch Kochsalz etwas gehemmt war. Da die negative Nettoladung der myofibrillären Proteine bei NaCl am größten ist, dürften die Voraussetzungen für eine zusammenhängende Gerüstbildung besonders günstig sein.

Die Vergleiche der Löslichkeitsverluste beim Erhitzen (siehe 3.2.3.) zeigen, daß mit NaCl ($I = 0,41$) die Hitzekoagulation zwar erst bei höheren Temperaturen einsetzt, dann jedoch intensiver abläuft; zwischen 59 und 62° C werden etwa 50 % unlöslich. Bei der kombinierten Salzanwendung sind es innerhalb dieses Temperaturbereiches nur etwa 30 %. Der Löslichkeitsverlust von salzfreiem Actomyosin setzt bereits bei 30° C ein, läuft dann aber langsamer ab. Offenbar begünstigt schnellerer Ablauf der Hitzekoagulation die Gerüstbildung.

Die Ergebnisse aus den Studien über die Gerüstbildung in reinen Actomyosinlösungen beim Erhitzen stimmen ebenfalls überein. Ferner konnte gezeigt werden, daß Hitzekoagulation und Gerüstbildung nicht immer Hand in Hand gehen. So setzt letztere bei salzfreiem Gel später ein als bei kochsalzhaltigem Actomyosin. Offensichtlich bedarf es bei salzfreiem Gel für ein zusammenhängendes Gerüst intensiverer Denaturierungseinflüsse. Die schwache, erst bei höheren Temperaturen einsetzende Gerüstbildung bei der phosphathaltigen Actomyosinlösung kann mit dem beobachteten Denaturierungsschutz erklärt werden.

Mit zunehmender Erhitzung verfestigen sich die Koagulate nur innerhalb bestimmter Temperaturbereiche. Hohe Hitzegrade verringern die Festigkeit des Actomyosingerüsts unter den hier gewählten Versuchsbedingungen in zunehmendem Maße. Bei Phosphatanwendung war sie sogar ganz aufgehoben.

3.4. Einfluß von Salzen auf Länge, Durchmesser sowie ultramikroskopische Struktur von Muskelfasern bei der thermischen Behandlung

3.4.1. Problemstellung

Bei der Muskelfaser äußert sich die Hitzeagulation durch Schrumpfung und Verminderung des Faserdurchmessers (88, 120, 257). Elektrolyte können diese Veränderungen abschwächen. Jedoch stammen die in der Literatur bekannten Ergebnisse meist aus Versuchen über das Safthaltevermögen (142, 253, 257, 265). Über die Vorgänge bei der Hitzeagulation innerhalb der Myofibrillen bei Salzanwesenheit liegen keine Untersuchungen vor. Die auf diesem Gebiet vorherrschenden Meinungen sind vor allem Hypothesen und Schlußfolgerungen aus Wasserbindungs- und Quellungsversuchen (88, 226).

3.4.2. Bestimmung der Faserverkürzung

3.4.2.1. Versuchsanordnung

Als Ausgangsmaterial wurde der M. semitendineus (4 Tage nach dem Schlachten dem Tierkörper entnommen) einer etwa 3-jährigen Kuh verwendet.

Nach dem Einfrieren bei etwa -10°C (16 Std.) wurden Muskelstreifen von 10 cm Länge und einem Querschnitt von 1,2 x 1,2 cm parallel zur Faserrichtung hergestellt und in die entsprechende Lake gelegt. Die Ionenstärke der Lake (Fleisch/Lake-Verhältnis 2 : 1) betrug jeweils 1,8; bei der kombinierten Methode entsprach der Phosphatanteil einer Ionenstärke von 0,42. Die Vergleichsproben wurden in physiologische Kochsalzlösung gebracht. Nach einer Einwirkungszeit von 14 Std. wurden die Muskelstreifen bei 60 sowie 80°C in physiologischer Kochsalzlösung erhitzt (20 min). Nach dem Abkühlen wurde die prozentuale Faserverkürzung errechnet.

3.4.2.2. Versuchsergebnis

Phosphat und zum Teil auch NaCl schwächen die durch Hitze-koagulation eintretende Faserverkürzung ab. Im Vergleich zu den salzfreien Muskelstreifen war bei 60° C jedoch nur bei Phosphatzusatz die Schrumpfung geringer. Bei 80° C wurden die Unterschiede zwischen den einzelnen Salzen undeutlicher.

Tabelle 9: Bestimmung der Faserverkürzung bei der Hitzekoagulation (in %)

Mittelwert aus 7 Bestimmungen

Salzart	60° C		80° C		Differenz zwischen 60 + 80° C (b-Werte)
	a	b	a	b	
ohne Salzzusatz	10,0 ($\pm 2,0$)	10,0	26,5 ($\pm 2,4$)	26,5	16,5
NaCl	16,7 ($\pm 1,5$)	13,4	21,1 ($\pm 1,0$)	17,8	4,4
NaCl+ Na ₃ HP ₂ O ₇	15,1 ($\pm 2,0$)	11,6	19,8 ($\pm 1,7$)	16,6	5,0
Na ₃ HP ₂ O ₇	9,2 ($\pm 1,8$)	5,4	17,2 ($\pm 0,25$)	13,8	8,4
NaCl+ Na-citrat	16,5 ($\pm 2,1$)	12,1	19,9 ($\pm 2,4$)	16,6	4,5

a: Prozentuale Schrumpfung ohne Berücksichtigung der bei der Pökellung eintretenden Faserverkürzung

b: Prozentuale Schrumpfung mit Berücksichtigung der bei der Pökellung eintretenden Faserverkürzung (sie betrug durchschnittlich 4 %)

3.4.3. Bestimmung des Faserdurchmessers

3.4.3.1. Versuchsanordnung

Das Fleisch (Ausgangsmaterial sowie Art der Pökellung siehe 3.4.2.1.) wurde im gefrorenen Zustand in Würfel mit einer Kantenlänge von 3,0 cm geschnitten und in entsprechende Pökellake gelegt. Anschließend wurden die Proben bei 70° C

40 min in physiologischer Kochsalzlösung erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden aus den Kernbezirken der Fleischwürfel die für die histologische Untersuchung notwendigen Muskelblöcke präpariert und mit Hilfe der Gefriertechnik ohne vorherige Fixierung 10/ μ dicke Schnitte gewonnen und sofort ausgewertet, ehe die beim Trocknen der Schnitte einsetzende Schrumpfung eintrat. Nach dem "Auffangen" der Schnitte mit einem trockenen Objektträger konnten während der ersten 4 min in keinem Falle Schrumpfungsveränderungen festgestellt werden. Innerhalb dieser Zeit mußte der Schnitt ausgewertet sein. Der Faserdurchmesser wurde mit einem Mikrometerokular bestimmt. Pro Schnitt sind 20 Fasern gemessen worden und zwar nur solche, deren Zellwände innerhalb einer Strecke von 200/ μ in etwa parallel waren. Für jede Charge wurden 10 Schnitte ausgewertet, also insgesamt 200 Faserdurchmesser bestimmt. Da infolge der durch Fixierung eintretenden Denaturierung die verschieden behandelten Muskelpräparate unterschiedlich stark schrumpfen, wurde darauf verzichtet.

3.4.3.2. Versuchsergebnis

Die Faserdurchmesser weisen innerhalb der einzelnen Ansätze große Unterschiede auf, so daß die Ergebnisse trotz sehr vieler Bestimmungen, insbesondere bei geringen Unterschieden, nur bedingt aussagefähig sind. Der Faserdurchmesser nimmt bei den hier untersuchten Chargen wie folgt ab: unbehandelt > erhitzt mit Phosphat >> erhitzt mit NaCl + Phosphat >> erhitzt mit NaCl > erhitzt mit NaCl + Citrat >> erhitzt ohne Salz.

Tabelle 10: Bestimmung des Faserdurchmessers (in/ μ)
Mittelwert aus 200 Bestimmungen

Salzart	therm. Behandl.	Faserdurchmesser
ohne Salzzusatz	nicht erhitzt	105,3 ($\pm$ 19,0)
ohne Salzzusatz	erhitzt	82 ($\pm$ 19,7)
NaCl	erhitzt	91 ($\pm$ 17,1)
NaCl + Na ₃ HP ₂ O ₇	erhitzt	97 ($\pm$ 16,4)
Na ₃ HP ₂ O ₇	erhitzt	104 ($\pm$ 19,8)
NaCl + Na-citrat	erhitzt	90,5 ($\pm$ 17,8)

3.4.4. Ultramikroskopische Untersuchungen

3.4.4.1. Versuchsanordnung

Die Versuchsanordnung (Ausgangsmaterial, Pökellung, Erhitzungsmethode) ist dem vorhergehenden Versuch zu entnehmen (siehe 3.4.3.1.). Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden Muskelfaserstückchen von etwa 1 mm^3 sofort nach der Entnahme für 2 Std. in gepuffertem 6,25 %igem Glutaraldehyd bei 4°C vorfixiert und gründlich in 0,1 m Phosphatpuffer (pH 7,3) gewaschen. Nach Fixation mit Osmiumtetroxid (1 %) erfolgte die Kontrastierung mit wäßrigem Uranylacetat (0,25 %), Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe und schließlich die Einbettung mit Durcupan ACM. Semidünn- und Dünnschnitte wurden auf einem Reichertmikrotom OmU 2 hergestellt. Die Semidünnschnitte wurden 3 min in Perjodsäure (3 %) gebeizt und mit Toluidinblau und Safranin gefärbt. Die Ultradünnschnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert und in einem Elmiskop I A der Firma Siemens betrachtet.

3.4.4.2. Versuchsergebnis

Pro Charge ist jeweils nur eine typische Aufnahme abgebildet. Bei der Beschreibung der Ergebnisse werden jedoch auch andere Aufnahmen herangezogen.

Durch thermische Behandlung kommt es ohne Salzzusatz zur Verdichtung der fibrillären Struktur. Die Filamente im Bereich der A-Bande sind nicht mehr voneinander zu trennen. Die I-Bande koaguliert nicht zusammenhängend, und es entstehen Hohlräume. Die Fibrillen sind unregelmäßig zueinander verschoben, und die Z-Linien zeigen aus diesem Grunde meist eine stufenförmige Anordnung. Infolge Gewebsverdichtung innerhalb der Fibrillen vergrößern sich deren Abstände zueinander.

Elektrolytzusatz zeigt eine ausgeprägte Wirkung. Die geringsten Veränderungen zeigen die mit Phosphat behandelten Proben. Ein Vergleich mit der unbehandelten Probe zeigt, daß

die H-Zone sowie die I-Bande elektronenoptisch dünner werden, während es in dem Bereich der A-Bande, in dem sowohl Actin- als auch Myosinfilamente vorliegen, zur Verdichtung kommt. Die Abstände zwischen den Fibrillen vergrößern sich. Mit NaCl und der kombinierten Salzung (NaCl + Phosphat; NaCl + Citrat) ist die Elektrolytwirkung deutlich zu erkennen. Wenngleich sich die Muskelfasern im elektronenmikroskopischen Bild durch diese 3 Salzzusätze in ähnlicher Weise darstellen, so sind doch geringgradige Unterschiede wahrzunehmen. Eine zunehmende Strukturveränderung läßt sich in der Reihenfolge $\text{NaCl} < \text{NaCl} + \text{Citrat} < \text{NaCl} + \text{Phosphat}$ feststellen. Im Bereich der A-Bande kommt es zu einer starken Auflockerung. Die ursprüngliche Filamentanordnung ist nicht mehr zu erkennen. Die A-Bande erscheint "homogen granuliert", und die H-Zone tritt nur noch undeutlich in Erscheinung. Die einzelnen Fibrillen gehen nahtlos ineinander über. Die I-Bande hebt sich deutlich ab und zeigt besonders bei den Proben mit Phosphat+NaCl große leere Räume. Auch die Z-Linie ist verschmälert, aufgelockert und unregelmäßig durchbrochen.

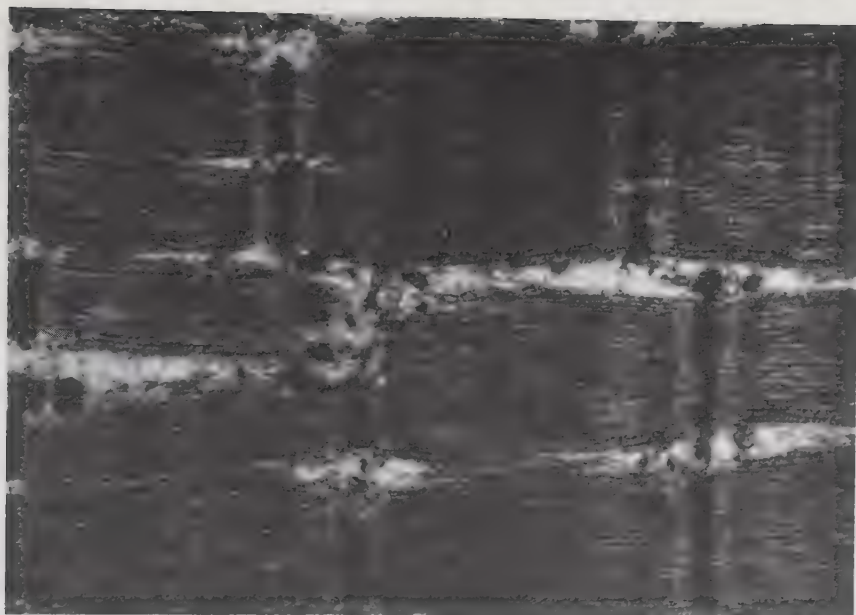


Abb. 4: nicht erhitzt, unbehandelt ($14000 \times 3,3$)



Abb. 5: erhitzt, unbehandelt ($14000 \times 3,3$)

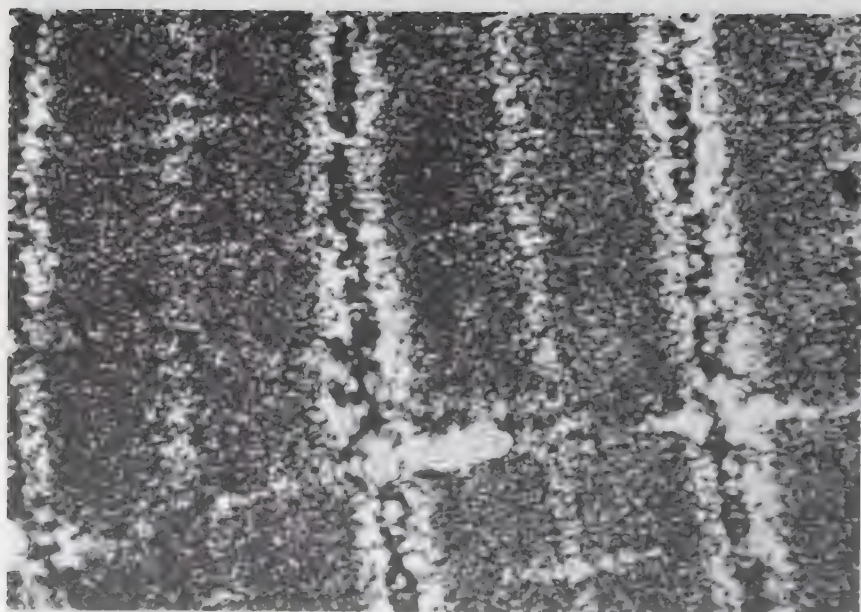


Abb. 6: erhitzt, behandelt mit NaOH (14000 x 3,3)

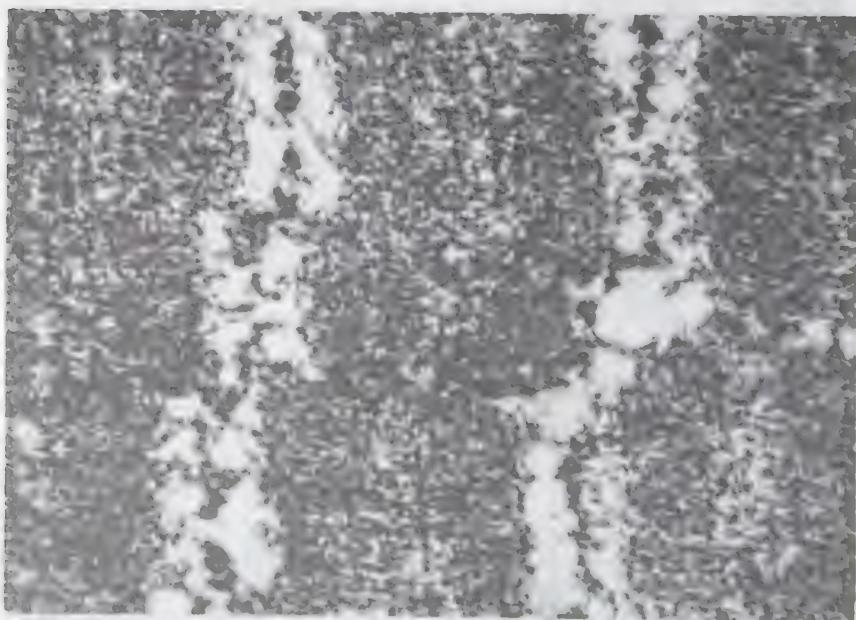


Abb. 7: erhitzt, behandelt mit NaOH + $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (14000 x 3,3)



Abb. 8: erhitzt, behandelt mit $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ (14000 $\times$ 3,3)



Abb. 9: erhitzt, behandelt mit HNO_3 + K_2 -citrat (14000 $\times$ 3,7)

3.4.5. Diskussion

Faserschrumpfung und Verringerung des Durchmessers sind eine Folge der Hitzekoagulation, die durch die einzelnen Salze unterschiedlich gehemmt wird (siehe 3.3.3.). So kommt es aufgrund intermolekularer Brückenbildungen zu einer entsprechenden Verdichtung und Verquirlung der Filamente. Bei alleiniger Phosphatanwendung sind die Veränderungen innerhalb der Muskelfaser in allen untersuchten Fällen am geringsten, und die Gewebsstruktur wird bei der thermischen Behandlung weitgehendst beibehalten. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, daß die dissoziierende und peptisierende Wirkung der Phosphate erst bei zusätzlicher Anwendung von Kochsalz in Erscheinung tritt. Auch bei alleiniger Kochsalzanwendung sowie kombiniert mit Citrat ist die Auflösung innerhalb der Fibrillen noch ausgeprägt, und im Bereich der A-Bande zeigt sich eine mehr oder weniger homogen koagulierte Masse. Trotz dieser starken Auflösung der fibrillären Struktur durch Kochsalz und besonders durch die kombinierte Salzanwendung ist der Schrumpfungsvorgang (Längen- und Durchmesserabnahme der Faser) ausgeprägter als bei alleiniger Phosphatanwendung, obwohl im letzteren Fall die kontraktile Proteine noch parallel zueinander und dichter angeordnet sind. Als Beweis für die zusätzliche schrumpfungs- und koagulationshemmende Wirkung der Phosphate kann auch die Tatsache angesehen werden, daß sich durch Temperaturerhöhung von 60 auf 80° C die Unterschiede in der Faserverkürzung nivellieren (siehe Tab. 9), da die Hitzekoagulation bei mit Phosphat behandelten Muskelfasern erst bei höheren Temperaturen einsetzt. Die geringe Schrumpfung der unbehandelten Muskelstreifen bei 60° C dürfte durch den starken Saftaustritt und die Abnahme des Faserdurchmessers - beide begünstigt durch die Versuchsbedingungen (relativ schmale Muskelstreifen) - bedingt sein. Nach HOSTETLER und LANDMANN (120) soll die Abnahme des Faserdurchmessers bereits bei 60° C beendet sein. Erst durch weitere Temperaturerhöhung tritt bei den salzfreien Muskelstreifen trotz gewisser "Austrocknung" eine intensive Faserverkürzung ein.

4. Zusammenfassung

1. Im Literaturteil werden ultramikroskopischer Aufbau der Muskelfaser, physikalisch-chemische Eigenschaften der myofibrillären Proteine sowie ihre Veränderungen durch Elektrolytwirkung und thermische Behandlung mit und ohne Elektrolytzusatz besprochen.
2. Mit Hilfe der SH-Gruppenbestimmung mit N-äthylmaleinimid (NEM) wird deutlich gemacht, daß die Auffaltung des Actomyosinmoleküls beim Erhitzen durch Anwesenheit von Elektrolyten (NaCl ; $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$) nicht beeinflusst wird.
3. Hitzekoagulation von gelöstem Actomyosin kann durch NaCl und besonders durch $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ stark eingeschränkt werden, jedoch nur bei Salzkonzentrationen, bei denen das Eiweiß molekulardispers gelöst ist.
4. Durch NaCl und insbesondere durch $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ wird die Emulsionskapazität verbessert und die Phasentrennung vermindert. Die Gerüstbildung in Emulsionen und Actomyosinlösungen bei der thermischen Behandlung kann nur durch NaCl begünstigt werden; $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ übt sogar negativen Einfluß aus.
5. Die Veränderungen von Faserlänge und -durchmesser beim Erhitzen werden durch NaCl und vor allem durch $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ abgeschwächt. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, daß die Struktur der mit $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ behandelten Muskelfaser beim Erhitzen weitgehend erhalten bleibt. Bei den übrigen angewandten Salzen nehmen Peptisation und Strukturverlust in folgender Reihenfolge zu: NaCl , $\text{NaCl} + \text{Na-citrat}$, $\text{NaCl} + \text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$.

Summary

1. In literature ultramicroscopical structure of muscle fibre, physico-chemical properties of myofibrillar proteins, in any case their changes by electrolytes and thermal treatment with and without addition of salts are discussed.
2. By determination of SH-groups with N-ethylmaleimide (NEM) can be shown that unfolding of the actomyosin molecules is not influenced by the presence of electrolytes (NaCl , $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$) by heating.
3. Heat coagulation of soluted actomyosin is strongly restricted by NaCl and especially by $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$, however only by salt concentrations, at which protein is soluted molecular-dispersely.
4. By NaCl and especially by $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ the emulsion capacity is improved and phase separation reduced. The protein-framework in emulsions and actomyosin solutions can be improved by heating only with NaCl ; $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ exerts even a negative influence.
5. The changes of fibre length and diameter will be reduced by heating by NaCl and especially by $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$. Electron microscope photos show that structure of $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ -treated muscle fibres during heating is largely preserved. By the other salts, which are employed, peptisation and loss of structure increase in the following sequence: NaCl , $\text{NaCl} + \text{Na-citrat}$, $\text{NaCl} + \text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$.

5. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ács, G., K.S. Biro and F.B. Straub:
The interaction between actomyosin and polyphosphates
Hung. Acta Physiol. 2 (1949) 84;
2. Acton, J.C.:
Effect of heat processing on extractability of salt-soluble protein, tissue binding strength and cooking loss in poultry meat loaves.
J. Food Sci. 37 (1972) 244;
3. Acton, J.C., and R.F. Saffle:
Stability of oil-in-water emulsions. 1. Effects of surface tension, level of oil, viscosity and type of meat protein.
J. Food Sci. 35 (1970) 852;
4. Acton, J.C., and R.L. Saffle:
Emulsifying capacity of muscle protein: Phase volumes at emulsion collapse.
J. Food Sci. 37 (1972) 904;
5. Amberson, W.R., B. Chinn, T. Erdős and H. Ludes:
Electrophoretic and ultracentrifugal analyses of protein extracts from whole mammalian muscles.
J. Biol. Chem. 181 (1949) 405;
6. Ando N., T. Ohasi und T. Ito:
Einige Bemerkungen über das Wasserbindungsvermögen des Fleisches.
19. Kongr. f. Fleischforsch. Paris 1973
7. Anglemier, A.F., A.A. El Badawi and R.F. Cain:
Effect of irradiation and pre-irradiation treatments on beef muscle proteins.
J. Food Sci. 29 (1964) 837;

8. Anson, M.L.:

Protein denaturation and the properties of protein groups.
Adv. in Protein Chem. 2 (1945) 361;

9. Bailey, K.:

Tropomyosin a new assymmetric protein of the muscle fibril.
Biochem. J. 43 (1948) 271;

10. Barany, M., H. Barany and F. Cuba:

Preparation of actin without extraction of myosin.
Nature 179 (1957) 818;

11. Banga, J., and A. Szent-Györgyi:

Adenosinetriphosphatase.
Science N.Y. 93 (1941) 158;

12. Belitzer, W.A.:

Denaturierungsformen und Modifikationen der Eiweiße.
In: Struktur und biologische Funktion der Eiweiße.
Fischer Verlag Jena 1962;

13. Bell, R.N.:

Ind. Eng. Chem. 39 (1947) 136
zit. nach: Furia, Th.E. (58);

14. Bendall, J.R.:

Effect of pyrophosphate on the shortening of muscle-fibre
models in presence of adenosine triphosphate.
Nature 172 (1953), 586;

15. Bendall, J.R.:

The swelling effect of polyphosphates on lean meat.
J. Sci. Food Agric. 5 (1954) 468;

16. Bendall, J.R.:

Muscles, molecules and movement.
Essay in: The Contraction of muscles. London 1969;

17. Bendall, J.R.:
The biochemistry of rigor mortis and cold-contraction.
19. Kongr. f. Fleischforsch. Paris 1973;
18. Blum, J.J., and M.F. Morales:
The interaction of myosin with adenosintriphosphate.
Arch. Biochem. Biophys. 43 (1953) 208;
19. Bouton, P.E., F.D. Carroll, P.V. Harris and W.R. Shorthose:
Influence of pH and fiber contraction state upon factors
affecting the tenderness of bovine muscle.
J. Food Sci. 38 (1973) 404;
20. Bouton, P.E., P.V. Harris and W.R. Shorthose:
The effects of ultimate pH on ovine muscle: water-holding
capacity.
J. Food Sci. 37 (1972) 351;
21. Bozler, E., and D. Lavine:
Permeability of smooth muscle.
Amer. J. Physiol. 195 (1958) 45;
22. Brahms, J., and J. Brezner:
Interaction of myosin A with ions.
Arch. Biochem. Biophys. 95 (1961) 219;
23. Bull, H.B.:
Protein structure.
Advanc. in Enzymol. 1 (1941) 1;
24. Bull, H.B., and K. Breese:
Protein hydration. I. Binding sites.
Arch. Biochem. Biophys. 128 (1968) 488;
25. Carpenter, J.A., and R.L. Saffle:
Emulsifying capacity of sausage meat.
J. Food Sci. 29 (1964) 774;

26. Caspar, D.L.D., C. Cohen and W. Longley:
Tropomyosin: crystal structure, polymorphism and molecular interactions.
J. Mol. Biol. 41 (1969), 87;
27. Clark, H.E., M.C. Wilmeath, D.L. Harrison and G.E. Vail:
The effect of braising and pressure saucepan cooking on the cooking losses, palatability, and nutritive value of the proteins of round steaks.
Food Research 20 (1955), 35;
28. Cohen, L.B.:
Viscosity of G-ADP and G-ATP actin.
Arch. Biochem. Biophys. 117 (1966), 289;
29. Conell, J.J.:
Some aspects of the texture of dehydrated fish.
J. Sci. Food Agric. 8 (1957), 526;
30. Conell, J.J., and P.F. Howgate:
The hydrogen ion titration curves of native, heat coagulated and frozen stored myofibrils of cod and beef.
J. Food Sci. 29 (1964), 717;
31. Conell, J.J., and I.M. Mackie:
Molecular weight of rabbit and cod myosin.
Nature 201 (1964), 78;
32. Cope, F.W.:
Nuclear magnetic resonance evidence for complexing of sodium ions in muscle.
Proceed. Nat. Acad. Sci. 54 (1965), 225;
33. Corsi, A., and S.V. Perry:
Some observations on the localisation of myosin, actin and tropomyosin in the rabbit myofibrill.
Biochem. J. 68 (1958), 12;

34. Cumper, C.W.N., and A.E. Alexander:
The surface chemistry of proteins.
Trans. Farad. Soc. 46 (1950) 235;
35. Du Bois, M.W., A.F. Anglemier, M.W. Montgomery and W.D. Davidson:
Effect of proteolysis on the emulsification characteristics of bovine skeletal muscle.
J. Food Sci. 37 (1972), 27;
36. Dubuisson, M.:
Séparation par voie chimique des myosines α et β .
Experientia 2 (1946), 412;
37. Dubuisson, M.:
Influence della nature des ions sur l'extractibilité des protéines de muscles au repos ou contracturés.
Biochim. et Biophys. Acta 5 (1950), 489;
38. Dubuisson, M.:
Muscle activity and muscle proteins.
Biol. Rev. Cambridge Pilosoph. Soc. 25 (1950) 46;
39. Ebashi, S.:
Third component participating in the superprecipitation of "natural actomyosin".
Nature 200 (1963), 1010;
40. Ebashi, S., and F. Ebashi:
A new protein component participating in the superprecipitation of myosin B.
J. Biochem. 55 (1964), 604;
41. Ebashi, S., and F. Ebashi:
 α -actinin, a new structural protein from striated muscle.
J. Biochem. 58 (1965) 7;

42. Ebashi, S., and M. Endo:
Calcium ion and muscle contraction.
Progr. Biophys. Mol. Biol. 18 (1968), 123;
43. Ebashi, S., A. Kodama and F. Ebashi:
Troponin. I. Preparation and physiological function.
J. Biochem. 64 (1968) 465;
44. Ebashi, S., and Y. Nonomura:
Proteins of the myofibrill. In: The structure and
function of muscle.
Academic Press, New York u. London 1973
45. Edsall, J.E., and J.W. Mehl:
The effect of denaturing agents on myosin. II. Viscosity
and double refraction of flow.
J. Biol. Chem. 133 (1940), 409;
46. Eerd van, J.P.:
Meat emulsion stability.
J. Food Sci. 36 (1971) 1121;
47. Eerd van, J.P.:
Emulsion stability and protein extractability of ovine
muscle as a function of time postmortem.
J. Food Sci. 37 (1972) 473;
48. Ellerkamp, W., und H. Haunerland:
Zur Frage der Zulässigkeit polymerer Phosphate zum
Wurstbrät.
Dtsche Lebensmittelrdsch. 48 (1952) 32;
49. Elpiner, J.E., and F.J. Draginskaya:
The physical and chemical properties of complexes from
polyphosphate with proteins and RNA.
Biokhimiya 30 (1965) 1090 ref. chem. Abstr. 64 (1966),
5354 a;

50. Endo, M., Y. Nonomura, T. Masaki, J. Ohtsuki and S. Ebashi:
Localization of native tropomyosin in relation to striation patterns.
J. Biochem. 60 (1966), 605;
51. Engelhardt, V.A.:
Adenosine triphosphatase properties of myosin.
Advanc. Enzymol. 6 (1946), 147;
52. Erdmann, A.M., and B.M. Watts:
Effect of storage conditions on loss of color and free sulfhydryl groups in cured meat.
Food Techn. 11 (1957), 183;
53. Erdös, T.:
The effects of salt on the isoelectric point of casein.
Stud. Inst. Med. Chem. Szeged 2 (1942), 37;
54. Esipova, N.G., and Y.N. Chirgadze:
Structural role of water in fibrillar proteins and polypeptides.
In: "Water in biological systems" (Hrsgb. L.P. Kayushin) (Übers. aus d. Russ.). Consultants Bureau New York 1969;
55. Fasold, H., und F. Turba:
Wissenschaftliche Veröffentlichung der DGE 5 (1959), 7;
56. Fleming, A.K.:
Calorimetric properties of lamb and other meats.
J. Food Techn. 4 (1969), 199;
57. Fritz, J.:
Phosphat-Fibrisol als Brätzusatzmittel zu Fleischbrühwürsten.
Fleischwirtschaft 4 (1952), 300;
58. Furia, Th.E.:
Handbook of food additives.
2nd Edition CRC-Press, Cleveland;

59. Gergely, J.:

The interaction between actomyosin and ATP. Light scattering studies.

J. Biol. Chem. 220 (1956), 917;

60. Gerritsma, K.W.:

Polymere Fosfaten teogevogd aan Levensmiddelen.

Voeding 15 (1954), 293;

61. Giles, B.G.:

Changes in meat produced by cooking.

15. Tagung Europ. Fleischforsch. Helsinki 1969;

62. Gorbato, A.V. und S.P. Kazakov:

Issledovanie nekatoryh fizikomechanit sheskih svojstumjasnogofarzka.

Izv. Vuzov, Pischtshevaja tehnologija Nr. 5 (1959);

63. Gosh, B.N., and E. Mihalyi:

Binding of ions by myosin.

II. Arch. Biochem. Biophys. 41 (1952), 107;

64. Gränicker-Frick, D.:

Der Einfluß der Erdalkali-Pyrophosphat-Komplexe sowie der freien Erdalkali- und Pyrophosphationen auf die Dissoziation des Actomyosins.

Helvet. Physiol. Pharmacol. Acta 23 (1965), 1;

65. Graeser, M.L., and J. Gergely:

Reconstitution of troponin activity from three protein components.

J. Biol. Chem. 246 (1971), 4226;

66. Grau, R.:

Die Beeinflussung der Wasserbindung von Fleisch durch Zusatz von Salzen.

Fleischwirtschaft (1952), 83;

67. Grau, R.:

Einflüsse auf Beschaffenheit und Zusammensetzung des Fleisches. In: Handbuch d. Lebensmittelchemie
3/2 Tierische Lebensmittel, Springer Verlag Berlin 1968;

68. Grau, R.:

Fleisch und Fleischwaren.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1969;

69. Grau, R., und A. Baumann:

Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels.
II. Mitt. Der Einfluß des pH-Wertes auf die Wasserbindung
von zerkleinertem Rindermuskel.
Biochem. Z. 325 (1953), 1;

70. Grau, R., und O. Fleischmann:

Brätzusatz und Fremdwasser bei Fleischbrühwürsten.
Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 48 (1952), 151, 180;

71. Grau, R., und R. Hamm:

Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels.
II. Mitt. Über die Bestimmung der Wasserbindung des
Muskels.
Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 105 (1957), 446;

72. Greenstein, J.P., and J.T. Edsall:

The effect of denaturing agents on myosin. I. Sulfhydryl
groups as estimated by porphyrin titration.
J. Biol. Chem. 133 (1940), 397;

73. Gstirner, F.:

Einführung in die Arzneibereitung.
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart 1963;

74. Hama, H., K. Maruyama and H. Noda:

Natural F-actin. I. Direct isolation of F-actin from
myofibrils and its physico-chemical properties.
Biochim. Biophys. Acta 102 (1965), 249;

75. Hamm, R.:

Die Wasserbindung des Fleisches und ihre wirtschaftliche Bedeutung.

Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 49 (1953), 153;

76. Hamm, R.:

Die Ursache der Wirkung von Brätzusatzmitteln und Kochsalz auf Fleisch.

Fleischwirtschaft 7 (1955), 196;

77. Hamm, R.:

Über den Einfluß von Salzen auf die Dissoziation des Calciums.

Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 104 (1956), 245;

78. Hamm, R.:

Das Salzen von Fleisch. I. Mitt. Die Bedeutung des Vorsalzens bei der Brühwurtherstellung.

Fleischwirtschaft 9 (1957), 477;

79. Hamm, R.:

Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels.

III. Mitteilung: Die Wirkung von Neutralsalzen.

Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 106 (1957), 281;

80. Hamm, R.:

Die Wirkung des Erhitzens auf Hydratation und pH-Wert von gesalzenem Rindfleisch.

Kulmbacher Jahresbericht 1960;

81. Hamm, R.:

Chemische und physikalische Veränderungen beim Erhitzen von Fleisch. II. Mitt. Einfluß des Erhitzens auf den Bindungszustand von Magnesium, Calcium und Phosphat im Rindermuskel.

Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 117 (1962), 113;

82. Hamm, R.:

Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels.
VIII. Mitt. Proteinladung und Wasserbindungsvermögen.
Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 116 (1962), 335;

83. Hamm, R.:

Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels.
X. Mitt. Der Einfluß von Salzen auf Proteinladung und
Wasserbindungsvermögen.
Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 116 (1962), 511;

84. Hamm, R.:

Die Mikrostruktur des Muskels und ihre Beziehung zum
Wasserbindungsvermögen des Fleisches.
Fleischwirtschaft 15 (1963), 298;

85. Hamm, R.:

Biochemische Faktoren der Fleischqualität und ihre Be-
deutung bei der Verarbeitung von Rindfleisch.
Fleischwirtschaft 44 (1964), 9;

86. Hamm, R.:

Heating of muscle system. In: Physiology and Biochemistry
of Muscle as a Food.
The University of Wisconsin Press London 1966;

87. Hamm, R.:

Scherwerte bei vom Knochen gelöstem und nicht gelöstem
Fleisch.
Fleischwirtschaft 11 (1969), 1506;

88. Hamm, R.:

Kolloidchemie des Fleisches.
Paul Parey Berlin u. Hamburg 1972;

89. Hamm, R.:

Eiweißkörper des Fleisches.
Fleischwirtschaft 53 (1973), 1605;

90. Hamm, R., and F.E. Deatherage:

Changes in hydration, solubility and protein charges of muscle proteins during heating of meat.

Food Res. 25 (1960), 587;

91. Hamm, R., und R. Grau:

Die Wirkung von Neutralsalzen bei der Hitzedenaturierung.

Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 108 (1958), 28;

92. Hamm, R., und R. Grau:

Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels.

V. Mitt. Die Wirkung von Salzen schwacher Säuren.

Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 108 (1958) 280;

93. Hamm, R., und H. Iwata:

Chemische und physikalische Veränderung beim Erhitzen von

Fleisch. I. Mitt. Wirkung des Erhitzens in Gegenwart von

NaCl auf Wasserbindungsvermögen und pH-Wert des Rindermuskels

Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 117 (1962), 20;

94. Hamm, R. und R. Rede:

Zur Rheologie des Fleisches. V. Wirkung von Kochsalz und

Diphosphat auf die rheologischen Eigenschaften von Rinder-

muskel-Homogenaten zu verschiedenen Zeitpunkten post mortem.

Fleischwirtschaft 3 (1972), 331;

95. Hamm, R., und K. Riesner:

Zur Rheologie des Fleisches. I. Messung der Fließeigen-

schaften von Muskelhomogenaten mit dem Rotationsviskosimeter.

Fleischwirtschaft 47 (1967), 1122;

96. Hamoir, G.:

Fish proteins.

Advanc. Protein chem. 10 (1955), 227;

97. Hammond, J.:

Growth and development of mutton qualities in the sheeps.

Oliver and Boyd, London 1932;

98. Hansen, L.V.:
Emulsion formation in finely comminuted sausage.
Food Techn. 14 (1960), 565;
99. Hanson, J.:
Axial period of actin filaments.
Nature 213 (1967), 353;
100. Hanson, J., and H.E. Huxley:
Structural basis of the cross-strations in muscle.
Nature 172 (1953), 530;
101. Hanson, J., and H.E. Huxley:
The structural basis of contraction in striated muscle.
Symp. Soc. Exp. Biol. 9 (1955), 228;
102. Hanson, J., and H.E. Huxley:
Quantitative studies on the structure of cross-striated myofibrils. II. Investigations by biochemical techniques.
Biochim. Biophys. Acta 23 (1957), 250;
103. Hanson, J., and J. Lowy:
The structure of F-actin and of actin filaments isolated from muscle.
J. Mol. Biol. 6 (1963), 46;
104. Hashimoto, Y., and T. Yasui:
Research on the detection of meat by serological tests.
J. Fac. Agric. Hokkaido Univ. 50 (1957), 171;
105. Hasselbach, W.:
Elektronenmikroskopische Untersuchung an Muskelfibrillen bei totaler und partieller Extraktion des L-Myosin.
Z. f. Naturforschung 8 b (1953), 449;

106. Hasselbach, W.:

Die Bindung von Adenosindiphosphat, von anorganischem Phosphat und von Erdalkalien an die Strukturproteine des Muskels.

Biochim. Biophys. Acta 25 (1957), 562;

107. Hasselbach, W., H.P. Hofschneider, E. Kasper und R. Lutz:

Die Sol-Gel-Umwandlung von gereinigtem Aktomyosin und von Aktomyosin während der Extraktion frischer und glycerinbehandelter Muskelfasern in Abhängigkeit von Ionalität, Ionenstärke und ATP.

Z. Naturforschung 8 b (1953), 204;

108. Hasselbach, W., und G. Schneider:

Der L-Myosin- und Aktingehalt des Kaninchenmuskels.

Biochem. Z. 321 (1951), 462;

109. Haurowitz, F.:

Chemistry and Biology of Proteins.

Academ. Press New York (1950), 86;

110. Haurowitz, F.:

Eiweißdenaturierung. In: Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Bausteine des Tierkörpers. II. Band IV/1 Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960;

111. Haurowitz, F.:

The chemistry and function of proteins.

Academ. Press New York und London (1963);

112. Hegarty, G.R., L.J. Bratzler and A.M. Pearson:

Studies on the emulsifying properties of some intracellular beef muscle proteins.

J. Food Sci. 28 (1963), 663;

113. Hellendoorn, E.W.:

Water-binding capacity of meat as affected by phosphates.
I. Influence of sodiumchloride and phosphates on the water
retention of comminuted meat at various pH values.
Food Techn. 16 Nr. 9 (1962), 119;

114. Helmer, R.L., und R.L. Saffle:

Effect of copping temperature on the stability of sausage
emulsions.
Food Techn. 17 Nr. 9 (1963), 115;

115. Hill, A.V.:

The state of water in muscle and blood and the osmotic
behaviour of muscle.
Proceed. Roy. Soc., London, Ser. B. 106 (1930), 477;

116. Hodge, A.J., H.E. Huxley and D. Spiro:

Electron microscope studies on ultrathin sections of muscle.
J. Exp. Med. 99 (1954), 201;

117. Hofmann, K.:

Untersuchung des Einflusses der thermischen Behandlung
von Fleisch auf die funktionellen Gruppen der strukturellen
Muskelproteine.
Rer. Nat. Diss. Gießen 1964;

118. Hofmann, K.:

Änderung des Sulfhydrylgehaltes von Fleisch durch Reaktion
mit Nitrit.
Jahresbericht Kulmbach 1968;

119. Hofmann, K., und R. Hamm:

Einfluß der Erhitzung auf Struktur und Zusammensetzung
von Muskeleiweiß.
Fleischwirtschaft 9 (1969), 1180;

120. Hostetler, R.L., and W.A. Landmann:

Photomikrographic studies of dynamic changes in muscle fiber fragments. 1. Effect of various heat treatments on length, width and birefringence.

J. Food Sci. 33 (1968), 468;

121. Huxley, H.E.:

Electron microscope studies of the organisation of the filaments in striated muscle.

Biochim. Biophys. Acta 12 (1953), 387;

122. Huxley, H.E.:

X-ray analysis and the problem of muscle.

Proc. Roy. Soc. B 141 (1953), 59;

123. Huxley, H.E.:

The double array of filaments in cross-striated muscle.

J. Biophys. Biochem. Cytol. 3 (1957), 631;

124. Huxley, H.E.:

Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle.

J. Mol. Biol. 7 (1963), 281;

125. Huxley, H.E.:

The mechanism of muscular contraction.

Science 164 (1969), 1356;

126. Huxley, H.E., and Brown:

The low-angle X-ray diagram of vertebrate striated muscle and its behaviour during contraction and rigor.

J. Mol. Biol. 30 (1967), 383;

127. Huxley, H.E., and J. Hanson:

Quantitative studies on the structure of cross-striated myofibrils. I. Investigations by interference microscopy. Biochim. Biophys. Acta 23 (1957), 229;

128. Huxley, H.E., and R. Niedergerke:
Structural changes in muscle during contraction. Interference microscopy of living muscle fibres.
Nature 173 (1954), 971;
129. Janicki, M.A., and Z. Walczak:
Investigation on the water unbibition of pork meat.
Med. Weterynar (Poland) Nr. 4, 1-24 (1955);
130. Inklaar, P.A.:
Interaction between polyphosphates and meat.
J. Food Sci. 32 (1967), 525;
131. Jaenicke, R.:
Recent developments in heat treatment.
^{2nd} Europ. Symp. on Food. Frankf.-Dechema-Monographien
56 (1965);
132. Jakus, M.A., and C.E. Hall:
Studies of actin and myosin.
J. Biol. Chem. 167 (1947), 705;
133. Joubert, D.H.:
J. Agric. Sci. 47 (1965), 59;
zit. nach: Lawry, R.A. (152);
134. Kako, Y.:
Studies on muscle proteins. II. Changes of beef-, pork- and chicken-proteins during the meat products manufacturing processes.
Mem. Fac-Agric. Koyoshima Univ. Jap. 6 (1968), 175;
135. Kakol, A., and J. Gruda:
Influence of pyrophosphate on modification of myosin by β -hydroxyethyl-2,4-dinitrophenyl disulfide.
Bull. Acad. Pol. Sci Ser. Biol. 14 (1966), 595;

136. Kaminer, B., and A.L. Bell:
Myosin filamentogenesis: Effects of pH and ionic concentration.
J. Mol. Biol. 20 (1966), 391;
137. Karlson, P.:
Biochemie.
Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1967.
138. Kawamura M., and K. Maruyama:
Electron microscopic particle length of F-actin polymerized in vitro.
J. Biochem. 67 (1970), 437;
139. Kiely, B., and A. Martonosi:
Kinetics and substrate binding of myosin adenosine triphosphatase.
J. Biol. Chem. 243 (1968), 2273;
140. Klotz, J.M.:
Protein interactions. In: Neurath, H. und K. Bailey:
The Proteins.
Vol I, Part B (1953), 727;
141. Klotz, J.M.:
Water. In: Horizons in Biochemistry.
Academ. Press New York und London 1962;
142. Körmendy, L., T. Fényes, J. Szeredi, E. Zukál and Gy. Gantner:
Some fundamental relationship of cooking losses, temperature and time.
9. Europ. Fleischforscherkongreß Budapest 1963;
143. Kotter, L.:
Über die Wirkung kondensierter Phosphate auf das Actomyosin-System. In: Kondensierte Phosphate in Lebensmitteln.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1958;

144. Kotter, L.:

Zur Wirkung kondensierter Phosphate und anderer Salze
auf tierisches Eiweiß.

Verlag M. u. H. Schaper, Hannover 1960;

145. Kotter, L., und O. Prändl:

Chemisch-physikalische Vorgänge bei der Brühwurstfabrikation.
Arch. Lebensmittelhyg. 7 (1956), 219;

146. Krölling, O., und H. Grau:

Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen
Anatomie der Haustiere.

Parey-Verlag, Berlin 1960;

147. Krylova, N.N., und A. Marchenko:

Die quantitativen Veränderungen von SH-, SS-Gruppen,
H₂S und Mercaptanen im Fleisch bei Sterilisation bei
verschiedenen pH-Werten.

Ref. chem. Abstr. 75 (1971), 87 S 36 b;

148. Laakkonen, E., J.W. Sherbon and G.H. Wellington:

Low-temperature-, long time heating of bovine muscle.

2. Changes in electrophoretic patterns.

J. Food Sci. 35 (1970), 178;

149. Laki, K.:

On the electronegativity of atoms and their influence on
the isoelectric point of casein.

Stud. Inst. Med. Chem. Szeged 2 (1942), 43;

150. Laki K., K. Maruyama and D.R. Kominz:

Evidence for the interaction between tropomyosin and actin.

Arch. Biochem. Biophys. 98 (1962), 323;

151. Langmuir, J.:

Surface chemistry.

Chem. Rev. 83 (1935), 147;

152. Lawry, R.A.:

Meat science.

Fergamon Press, Oxford-London 1966;

153. Lerche, M.:

Über die Bedeutung der Phosphate für die Herstellung von Wurstwaren.

Fleischwirtschaft 3 (1951), 80;

154. Lerche, M.:

Die Auswirkung der Phosphatzugabe auf Fleischwaren.

Fleischwirtschaft 3 (1951), 257;

155. Levy, M., and A.F. Benaglia:

The influence of temperature and pH upon the rate of denaturation of ricin.

J. Biol. Chemistry 186 (1950), 829;

156. Ling, G.N.:

The physical state of water in biological systems.

Food Techn. 22 Nr. 10 (1968), 52;

157. Locker, R.H.:

The dissociation of myosin by heat coagulation.

Biochim. Biophys. Acta 20 (1956), 515;

158. Loeb, J.:

Die Eiweißkörper und die Theorie der kolloidalen Erscheinungen.

Springer-Verlag Berlin 1924;

159. Lorenz, H.L.:

Der Einfluß von NaCl und Pyrophosphat auf die Grenzflächen-
spannung von Actomyosinlösungen gegen Luft und gegen Oliven-
öl.

Vet. med. Diss., München 1958;

160. Lowey, S.:

Muscle. Protein assemblies in muscle. In: Protein-protein interactions.

Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1972;

161. Luyet, B.J.:

Freezing and thawing. In: Physiology and biochemistry of muscle as a food.

The University of Wisconsin Press London 1966;

162. Lyons, J.W., and Ch.D. Siebenthal:

On the binding of condensed polyphosphates by proteins.

Biochim. Biophys. Acta 120 (1966), 174;

163. Marsh, B.B.:

The effects of adenosine triphosphate on the fibre volume of a muscle homogenate.

Biochim. Biophys. Acta 9 (1952), 247;

164. Maruyama, K.:

Interaction of tropomyosin with actin. A flow birefringence study.

Arch. Biochem. Biophys. 105 (1964), 142;

165. Maruyama, K.:

A new protein-factor hindering network formation of F-actin in solution.

Biochim. Biophys. Acta 94 (1965), 208;

166. Maruyama, K.:

Effect of β -actinin on the particle length of F-actin.

Biochim. Biophys. Acta 126 (1966), 389;

167. Masaki, T., M. Endo and S. Ebashi:

Localization of 6 S-component of α -actinin at Z-band.

J. Biochem. 62 (1967), 630;

168. Masszi, G., and A. Tigyi-Sebes:

The state of potassium in muscle investigated by high frequency.

Acta Physiol. Academ. Sci Hung. 22 (1962), 273;

169. Mathorne, H.:

Verfahren zur Wärmebehandlung von Eiweiß und Mittel zur Stabilisierung von Proteinen gegen Wärmebehandlung (Eiklar). Dtsch. Patentoffenlegung 1692562 offengel. 27.5.1970;

170. Meienhofer, J., und H. Zahn:

Eiweiß. Allgemeiner Teil. A. Gewinnung und Reindarstellung von Proteinen. In: Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Bausteine des Tierkörpers II, Band IV/1. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960;

171. Mellou, E.F., A.H. Korn and S.R. Hoover:

Water absorption of proteins. IV. Effect of physical structure.

J. Amer. Chem. Soc. 71 (1949), 2761;

172. Michels, P.W.:

Verbindungen der Phosphorsäure in Lebensmitteln.

Palka-Verlag, Weeze 1968;

173. Mihalyi, E., and Szent-Györgyi A.:

Trypsin digestion of muscle proteins. I. Ultracentrifugal analysis of the process.

J. Biol. Chem. 201 (1953), 189;

174. Mirsky, A.E., and M.L. Anson:

The reactions of iodine and iodoacetamide with native eggalbumin.

J. Gen. Physiol. 23 (1940, 321;

175. Möhler, K.:

Be- und Verarbeitung von Fleisch. In: Handbuch d.
Lebensmittelchemie. 3/2 Tierische Lebensmittel.
Springer-Verlag Berlin 1968;

176. Möhler, K., und F. Kiermeier:

Die Wirkung anorganischer Phosphatzusätze auf tierisches
Eiweiß. I. Der Einfluß auf den pH-Wert von Fleischeiweiß.
Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 95 (1952), 170;

177. Möhler, K., und F. Kiermeier:

Die Wirkung anorganischer Phosphatzusätze auf tierisches
Eiweiß. IV. Mitt. Das Verhalten des pH-Wertes bei der
Hitzekoagulation von Muskelfleisch.
Z. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 99 (1954), 210;

178. Mommaerts, W.F.H.M.:

The molecular transformations of actin. I. Globular actin.
J. Biol. Chem. 198 (1952), 445;

179. Moore, P.B., H.E. Huxley and D.J. De Rosier:

Three-dimensional reconstruction of F-actin, thin fila-
ments and decorated thin filaments.
J. Mol. Biol. 50 (1970), 279;

180. Morgan, C., G. Rozsa, A. Szent-Györgyi and R.W.G. Wyckoff:

Macromolecular arrangement within muscle.
Science 111 (1950), 201;

181. Morimoto, K., and W.F. Harrington:

Isolation and physical chemical properties of an "M-Linie"
protein from skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 247 (1972), 3052;

182. Morse, R.E.:

How phosphates can benefit meats.
Food Engng. 27 Nr. 10 (1955), 84;

183. Mueller, H., and S.V. Perry:

The degradation of heavy meromyosin by trypsin.
J. Biochem. 85 (1962), 431;

184. Murphy, A.J.:

Circular dichroism of the adenosine and 6-Mercapto-
purine nucleotide complexes of actin.
Biochemistry 10 (1971), 3723;

185. Nagy, B., and H. Strzelecka-Golaszewska:

Optical rotatory dispersion and circular dichroic
spectra of G-Actin.
Arch. Biochem. Biophys. 150 (1972), 428;

186. Nakayama, T., and Y. Sato:

Relationships between binding quality of meat and myo-
fibrillar proteins. 3: Contribution of myosin A and
actin to rheological properties of heated minced-meat
gel.
J. Texture Stud. 2 (1971), 75;

187. Nauss, K.M., S. Kitagawa and J. Gergely:

Pyrophosphatebinding and adenosinetriphosphatase activity
of myosin and its proteolytic fragments.
J. Biol. Chem. 244 (1969), 755;

188. Nemethy, G., J.Z. Steinberg and H.A. Scheraga:

Influence of water structure and of hydrophobic inter-
actions on the strength of side-chain hydrogen bonds.
Biopolymers 1 (1963), 43;

189. Nessterow, W.P.:

Mikrolokalisation des Kaliums in Myofibrillen mit Hilfe
des Natriumtetraphenylats und des Interferenzmikroskops.
Citologija 6 (1964), 754; ref. Chem. Zbl. 137, 14-1445
(1966);

190. Netter, H.:
Theoretische Biochemie.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959;
191. Nihei, T., and Y. Tonomura:
Elongation and dissoziation of myosin B by phosphates.
J. Biochem. 45 (1959), 1355;
192. Nilsson R., and K. Persson:
The effect of non meat proteins on the emulsion capacity
of meat proteins.
17. Europ. Fleischforscherkongreß in Bristol/England 1971;
193. Noda, H., and S. Ebashi:
Aggregation of myosin A.
Biochim. Biophys. Acta 41 (1960), 386;
194. Nonomura, Y.:
A study on the physicochemical properties of α -actinin.
J. Biochem. 61 (1967), 796;
195. Okada, M., and S. Tada:
Swelling of aquatic animal muscles. I. Influence of pH.
Bull. Japan. Soc. Sci Fisheries 19 (1953), 178;
196. Pauling, L.:
General chemistry.
Verlag Freeman and Company, San Francisco 1954;
197. Fendl, I., und K. Felix:
Eiweiß, deskriptiver Teil. In: Hoppe-Seyler-Thierfelder:
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen
Analyse. Bausteine des Tierkörpers II, Band IV/1.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960;

198. Pepe, F.A.:

Some aspects of the structural organisation of the myofibril as revealed by antibody-staining methods.

J. Cell. Biol. 28 (1966), 505;

199. Pocsik, S.:

Structure of water in muscle.

Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci Hung. 4 (1969), 395;

200. Popp, H., and F.N. Muhlbrecht:

Investigations on the effect of customary additives on meat fibres in meat processing.

Fleischwirtschaft 10 (1958), 339;

201. Portzehl, H.:

Die kolloidalen Äußerungen der Muskelstrukturen und die Änderungen der Lichtstreuung durch den Muskel.

Pflügers Arch. 272 (1961), 463;

202. Raab, L.:

Über die Wirkung verschiedener Salzlösungen auf Gelatine und lyophilisiertes Aktomyosin.

Vet. med. Diss., München 1955;

203. Rees, M.K., and M. Young:

Studies on the isolation and molecular properties of homogeneous globular actin.

J. Biol. Chem. 242 (1967), 4449;

204. Rice, R.V.:

In: "Biochemistry of muscle contraction" von Gergely, Little Brown und Co.

Boston (1964), 41;

205. Rice, R.V., A.C. Brady, R.H. Depue and R.E. Kelly:

Morphology of individual macromolecules and their ordered aggregates by electron microscopy.

Biochem. Z. 345 (1966), 370;

206. Rome, E.:

X-ray diffraction studies of the filament lattice of striated muscle in various bathing media.

J. Mol. Biol. 37 (1968), 331;

207. Römpp, H.:

Römpps Chemie-Lexikon, 7. Auflage.

Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart 1973;

208. Saffle, R.L., and L.J. Bratzler:

The effect of fatness on some processing and palatability characteristics of pork carcasses.

Food Techn. 13 (1959), 236;

209. Saffle, R.L., and J.W. Galbreath:

Quantitative determination of salt-soluble protein in various types of meat.

Food Techn. 18 (1964), Nr. 12, 119;

210. Samejuna, K., Y. Harishimoto, T. Yasui and T. Fukazawa:

Heat gelling properties of myosin, actin, actomyosin and myosin-subunits in a saline model system.

J. Food Sci. 34 (1969), 242;

211. Sarkar, N.:

The effect of ions and ATP on myosin and actomyosin.

Enzymologia 14 (1950/51), 237;

212. Sarkar, N.:

Effect of salts on the isoelectric point of myosin.

Enzymologia 15 (1951), 1;

213. Savic, J., and Karan-Djurdjic:

The effect of salt and heating on some properties of meat.

4. Tagung Europ. Fleischforsch. Cambridge 1958;

214. Scatchard, G., and E.S. Black:

The effect of salts on the isoionic and isoelectric points of proteins.

J. Phys. Colloid Chem. 53 (1949), 88;

215. Scheraga, H.A.:

Protein Structure.

New York, London (1961), 81;

216. Schmidt, J.G., and F.C. Parrish:

Molecular properties of post mortem muscle. 10. Effect of internal temperature and carcass maturity on structure of bovine longissimus.

J. Food Sci. 36 (1971), 110;

217. Schramm, G.:

Größe und Form von Proteinmolekülen. Die Physik der Hochpolymeren von H.A. Stuart, II. Band. Das Makromolekül in Lösungen, 16. Kap..

Verlag Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1953, S. 702;

218. Schramm, G., and H.H. Weber:

Über monodisperse Myosinlösungen.

Kolloid Z. 100 (1942), 242;

219. Schraub, M.C., and S.V. Perry:

The relaxing protein system of striated muscle.

Biochem. J. 115 (1969), 993;

220. Schraub, M.C., and S.V. Perry:

The regulatory proteins of the myofibril.

Biochem. J. 123 (1971), 367;

221. Schut, J.:

Die Emulgierbarkeit von Schlachtfetten bei der Herstellung von Brühwurst. 3. Mitt. Über die Emulgierwirkung der Fleischeiweiße.

Fleischwirtschaft 49 (1969), 67;

222. Segal, L.:

Stufenweise Denaturierung an Eiweissen.

Acta Biol. Med. Ger. 10 (1963), 488;

223. Sherman, P.:

The water binding capacity of fresh pork. I. The influence of sodiumchloride, pyrophosphate and polyphosphate on water absorption.

Food Techn. 15 Nr. 2 (1961), 79;

224. Sherman, P.:

The water binding capacity of fresh pork. III. The influence of cooking temperature on the water binding capacity of lean pork.

Food Techn. 15 (1961), 90;

225. Shults, G.W., D.R. Russel and E. Wierbicki:

Effect of condensed phosphates on pH, swelling and water-holding capacity of beef.

J. Food Sci. 37 (1972), 860;

226. Speck, E.:

Über die Quellwirkung verschiedener Salze auf zerkleinerte Kaninchenmuskulatur bei niederer Ionenstärke.

Vet. med. Diss., München 1957;

227. Straub, F.B.:

Reaction of adenylyltriophosphate with myosin A.

Stud. Inst. Med. Chem. Szeged 1 (1941/42), 43;

228. Straub, F.B.:

Actin I.

Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 2 (1942), 3;

229. Straub, F.B.:

Actin II.

Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 3 (1943), 38;

230. Straub, F.B.:

On the specificity on the ATP-effect.

Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 3 (1943), 39;

231. Straub, F.B., and G. Feuer:

Adenosintriphosphate, the functional group of actin.

Biochim. Biophys. Acta 4 (1950), 455;

232. Strobl, A.:

Untersuchungen über die Denaturierung von Muskeleiweißkörper bei der Fleischzerkleinerung.

Vet. med. Diss., München 1957;

233. Sulzbacher, W.L.:

Meat emulsions.

J. Sci. Food Agric. 24 (1973), 589;

234. Swift, C.E., and M.D. Berman:

Factors affecting the water retention of beef.

1. Variations in composition and properties among eight muscles.

Food Techn. 13 (1959), 365;

235. Swift, C.E., and R. Ellis:

The action of phosphates in sausage products. I. Factors affecting the water retention of phosphate-treated ground meat.

Food Techn. 10 (1956), 546;

236. Swift, C.E., and R. Ellis:

The action of phosphates in sausage products. II. Pilot plant studies of the effect of some phosphates on binding and color.

Food Techn. 11 (1957), 450;

237. Swift, C.E., C. Lockett and A.S. Fryar:

Comminuted meat emulsion. The capacity of meats for emulsifying fat.

Food Techn. 15 (1961), 468;

238. Swift, C.E., and W.L. Sulzbacher:
Comminuted meat emulsions: Factors affecting meat proteins as emulsion stabilizers.
Food Techn. 17 (1963), 224;
239. Szent-Györgyi, A.G.:
Actomyosin. In: Studies on muscle.
Stockholm 1945;
240. Szent-Györgyi, A.G.:
Chemistry of muscular contraction.
Academ. Press New York 1951;
241. Szent-Györgyi, A.G.:
A new method for the preparation of actin.
J. Biol. Chem. 192 (1951), 361;
242. Ten Cate, B.:
Elementare Pökelversuche.
Fleischwirtschaft 13 (1961), 400;
243. Tilgner, D.J.:
Die Technologie des Garverfahrens Grillen.
Fleischwirtschaft 45 (1965), 1145;
244. Tonomura, Y.:
Muscle proteins, muscle contraction and cation transport.
University Park Press, Baltimore, London, Tokyo, 1973;
245. Tonomura, Y., P. Appel and M. Morales:
On the molecular weight of myosin.
Biochemistry 5 (1966), 515;
246. Toth, L., und R. Hamm:
Zur Rheologie des Fleisches. III. Messung der Fließgrenze und der Viskosität von Modellbräten mit dem Rotationsviskosimeter.
Fleischwirtschaft 48 (1968), 1651;

247. Tsai R., R.G. Cassens and E.J. Briskey:

The emulsifying properties of purified muscle proteins.
J. Food Sci. 37 (1972), 286;

248. Tsao, T.C.:

The molecular dimensions and the monomer-dimer-trans-
formation of actin.

Biochim. Biophys. Acta 11 (1953), 227;

249. Tsao, T.C., and K. Bailey:

The extraction, purification and some chemical properties
of actin.

Biochim. Biophys. Acta 11 (1953), 102;

250. Tsao, T.C., K. Bailey and G.S. Adair:

The size, shape and aggregation of tropomyosin particles.

Biochem. J. 49 (1951), 27;

251. Tsiperovich, A.S.:

On the mechanism of protein denaturation. Denaturativ
stabilisation of globular proteins.

Biochimija 21 (1965), 203;

252. Tyszkiewicz, S., and T. Tyszkiewicz:

An attempt to establish the mechanism of juice exudation
from thermally processed meat.

Roczniki Instytutu Przemysłu Miesnego 3, Nr. 1 (1966), 51;

253. Unger, F.:

Studien über Kochverluste von zerkleinertem Fleisch.

Vet. Med. Diss. München 1966;

254. Urnes, P., and P. Doty:

Optical rotation and the conformation of polypeptides
and proteins.

Advan. Protein chem. 16 (1961), 401;

255. Vandenheuvel, F.A.:

Structural role of water in lipoprotein systems.
Protoplasma 63 (1967), 188;

256. Waldschmidt-Leitz, E., und O. Kirchmeier:

Chemie der Eiweißkörper.
Enke Verlag, Stuttgart, 1968;

257. Wasilewski, St., A. Pisula, H. Pakula und A. Nosowicz:

Wirkung von Salzgehalt und Erhitzungszeit auf die
physikalisch-chemischen Eigenschaften von Schinkenmuskeln.
(Übers. aus dem Polnischen).
Gospodarka Miesna 21, Nr. 8/9, 9 (1969);
ref. in Food Sci. Technol. Abstr. 2, 3 S. 189 (1970);

258. Watts, B.M., A.M. Erdman and J. Wentworth:

Relation of free sulphydryl groups to cured meat color.
Agric. and Food Chem. 3 Nr. 2 (1955), 147;

259. Weber, H.H.:

Die Actomyosinmodelle und der Kontraktionszyklus des
Muskels.
Z. Elektrochem. angew. physik. Chemie 55 (1951), 511;

260. Weber, H.H.:

Is the contracting muscle in a new elastic equilibrium?
Proc. Roy. Soc. 139 B (1952), 512;

261. Weber, H.H., and H. Portzehl:

Muscle contraction and fibrous muscle proteins.
Advances in Protein Chem. 7 (1952), 162;

262. Weber, H.H., und H. Portzehl:

Kontraktion, ATP-Cyclus und fibrilläre Proteine des Muskels.
Erg. Physiol. 47 (1952), 369;

263. Weniger, J.H., D. Steinhilber und G. Pahl:
Untersuchungen über Fleischeigenschaften an wachsenden
Mastrindern deutscher Zweinutzungsrasen.
Fleischwirtschaft 14 (1962), 1143;
264. Wierbicki, E., und L. Burell:
Die Bestimmung der Fleischquellung als Methode zur Unter-
suchung der Wasserbindungskapazität von Muskelproteinen
mit geringem Saffthaltevermögen.
Fleischwirtschaft 10 (1962);
265. Wierbicki, E., V.R. Cahrel and F.E. Deatherage:
Effects of added sodium chloride, potassium chloride,
calcium chloride, magnesium chloride, and citric acid
on meat shrinkage at 70° C and of added sodium chloride
on drip losses after freezing and thawing.
Food Techn. 11 (1957), 74;
266. Wierbicki, E., L.E. Kunkle and F.E. Deatherage:
Changes in the WHC and cationic shifts during the heating
and freezing and thawing of meat as revealed by a simple
centrifugal method for measuring shrinkage.
Food Techn. 11 (1957), 69;
267. Woods, F.E.:
Molecular weight and subunit structure of tropomyosin B.
J. Biol. Chem. 242 (1967), 2859;
268. Woods, F.E.:
Studies on the denaturation of tropomyosin and light-
meromyosin.
Int. J. of Prot. Research 1 (1969), 29;
269. Yasui, T., T. Fukazawa, K. Takahashi, M. Skaniski and
Y. Hashimoto:
Specific interaction of inorganic polyphosphates with
myosin B.
J. Agric. Food Chem. 12 (1964), Nr. 5, 399;

270. Yasui, T., H. Kawakami and F. Morita:

Thermal inactivation of myosin A adenosine triphosphatase in the presence of F-actin.

Agric. Biol. Chem. 32 (1968), 225;

271. Yasui, T., Sakanishi and Y. Hashimoto:

Effect of inorganic polyphosphates on the solubility and extractibility of myosin B.

J. Agric. Food Chem. 12 (1964), 392;

272. Yphantis, D.A.:

Equilibrium ultracentrifugation of dilute solutions.

Biochemistry 3 (1964), 297;

273. Zobel, C.R., and F.D. Carlson:

An electron microscopic investigation of myosin and some of its aggregates.

J. Mol. Biol. 7 (1963), 78;

Lebenslauf

Name: Franz Schrott
geboren: 27. August 1944 in Wolnzach
Eltern: Michael Schrott; Maria Schrott, geb. Bschaid
Volksschule: 1950 - 1957 in Wolnzach
Oberschule: Deutsches Gymnasium Eichstätt (1957 - 1964)
Abitur 1964
Bundeswehr: 1964 - 1966
Hochschule: 1966 - 1971 Studium der Tiermedizin
an der Universität München
1971 Staatsexamen und Bestallung als
Tierarzt.

Am Ende meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof.
Dr. Dr. h.c. L. Kotter für die Überlassung des
Themas und des Arbeitsplatzes sehr herzlich
danken.

Mein Dank gilt ebenso Herrn Dr. A. Fischer
für die vielen Anregungen und die kritische
Durchsicht des Manuskripts.

Herrn Dr. D. v. Bomhard, Institut für Tier-
pathologie, gilt mein Dank für die Durchführung
der elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

